

**SKRINING PARTISI-PARTISI DAN FRAKSI-FRAKSI LARUT ETIL
ASETAT DARI EKSTRAK METANOL DAUN BOTTO-BOTTO (*Chromolaena
odorata* (Linn)) YANG PALING SELEKTIF DALAM MENGHAMBAT
PERTUMBUHAN SEL KANKER HELA DAN SEL KANKER MCF-7**



SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Farmasi

Jurusan Farmasi Pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

UIN Alauddin Makassar

Oleh:

FARADHIBA AMRIANI

70100113009

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UIN ALAUDDIN MAKASSAR

2017

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertandatangan di bawah ini:

Nama	Faradhiba Amriani
NIM	70100113009
Tempat/Tanggal Lahir	Ujung pandang, 20 September 1995
Jur/Prodi/Konsentrasi	Farmasi
Alamat	BTN, Andi Torro Permai B12/11
Judul	Skrining Partisi-Partisi Dan Fraksi-Fraksi Larut Etil Asetat Dari Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto (<i>Chromolaena odorata</i> (Linn)) Yang Paling Selektif Dalam Menghambat Pertumbuhan Sel Kanker HeLa dan Sel Kanker MCF-7

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini adalah hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Samata-Gowa, Agustus 2017

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

Penyusun,

ALAUDDIN
M A K A S S A R

FARADHIBA AMRIANI

NIM. 70100113009

PENGESAHAN SKRIPSI

Skrripsi yang berjudul "Skrining Partisi-Partisi Dan Fraksi-Fraksi Larut Etil Asetat Dari Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata* (Linn)) Yang Paling Selektif Dalam Menghambat Pertumbuhan Sel Kanker HeLa dan Sel Kanker MCF7 " yang disusun oleh Faradhiba Amriani, NIM : 70100113009, Mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam Ujian Sidang Skripsi yang diselenggarakan pada hari Selasa, tanggal 15 Agustus 2017 M, yang bertepatan dengan 22 Dzulqa'idah 1438 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi dalam Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jurusan Farmasi

Samata-Gowa, 15 Agustus 2017 M

22 Dzulqa'idah 1438 H

DEWAN PENGUJI

Ketua	: Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc	(.....)
Sekretaris	: Haeria S.Si., M.Si	(.....)
Pembimbing I	: Nursalam Hamzah S.Si., M.Si., Apt	(.....)
Pembimbing II	: Afrisusnawati Rauf S.Si., M.Si., Apt	(.....)
Penguji I	: Alifia Putri Febriyanti, S.Farm., M.Farm., Klin. Apt	(.....)
Penguji II	: Dr. Nur Hidayat Muh. Said, M. Ag	(.....)

Dekan,

Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc

NIP. 19530203 198312 1 001

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya yang telah diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini merupakan salah satu syarat memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Shalawat serta salam semoga tercurah atas Nabi Muhammad SAW, yang termulia dari para Nabi dan Rasul. Dan semoga pula tercurah atas keluarganya, sahabatnya dan para pengikutnya hingga akhir zaman.

Penghargaan yang setinggi-tingginya dan terima kasih yang tak terhingga penulis persembahkan kepada kedua orang tua tercinta Ayahku **Amiruddin SmHK** dan Ibuku **Hj. Suarni S.Pd** Yang tak henti-hentinya memberikan doa dan motivasi serta dukungan baik dalam bentuk moril terlebih lagi dalam bentuk materil, sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik karena kasih sayang dan bimbingan beliau, dan buat saudara-saudariku tercinta serta seluruh keluarga besar penulis yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih atas doa, kasih sayang dan bimbingannya kepada penulis, tiada kata yang pantas untuk mengungkapkan betapa besar cinta dan kasih sayang yang telah kalian berikan.

Sebagai ungkapan kebahagiaan, tak lupa penulis juga menyampaikan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr.Musafir Pababbari, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
2. Bapak Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
3. Ibu Dr. Nur Hidayah, S. Kep., Ns., M. Kes, selaku Wakil Dekan I, Ibu Dr. Andi Susilawaty, S.Si., M. Kes., selaku Wakil Dekan II, dan Bapak Dr. Mukhtar Luthfi, M.Pd., Selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
4. Ibu Haeriah S.Si., M.Si., Apt, selaku Ketua Jurusan Farmasi, dan Ibu Mukhriani, S.Si., M.Si., Apt, selaku Sekretaris Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
5. Bapak Nursalam Hamzah S.Si., M.Si., Apt., selaku pembimbing pertama yang telah banyak memberikan arahan, motivasi dan bantuannya serta telah meluangkan waktunya dalam membimbing penulis, dan Ibu Afrisusnawati Rauf S. Si., M.Si., Apt selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan arahan, motivasi, dan bantuan serta telah meluangkan waktunya dalam membimbing penulis.
6. Ibu Alifia Putri Febriyanti S.Farm., M.Farm Klin., Apt selaku penguji kompetensi yang telah banyak memberikan arahan dan bimbingan serta telah meluangkan waktunya untuk memberikan koreksi dan saran kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini

7. Bapak Dr. Nur Hidayat Muh. Said M.Ag selaku penguji agama yang telah memberikan arahan dan bimbingan serta telah meluangkan waktunya untuk memberikan koreksi dan saran kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
8. Kepada Bapak Prof. dr. Supargiyono SU., PhD selaku pembimbing penulis saat berada di Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada yang telah meluangkan waktu dengan ikhlas membagi ilmunya kepada penulis. Kepada mbak Suprihatin SE., MBA selaku teknisi laboratorium parasitologi fakultas kedokteran Universitas Gajah Mada yang senantiasa membimbing dan mengarahkan penulis selama menjalankan penelitian.
9. Kepada “The Botto-Botto Team” alias untuk Nurfadilah Absa dan St. Rahmah Akbar, terima kasih banyak atas waktu, semangat, kerjasama dan pengertiannya dari awal penelitian hingga sekarang. Untuk “The Kanker Team” alias untuk Zakiah Anugerah Hamzah, Wahyu Lyana Ningsih, dan Andini Mulya Lestari terima kasih banyak karena telah menjadi tempat berbagi selama pengerjaan skripsi ini dan ketika pengerjaan penelitian di Yogyakarta.
10. Kepada “**Far13ion**”, terima kasih banyak atas bantuan dan pengertiannya kepada penulis sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.

Terkhusus kalian (Utti, Wira, Linda, Umrah, Nur, Dilah, Etty, Juju, Kiki, Fitrah, Yuda, Isma, Nur, DT, Upi, Ihsan, Nurwa, dan PAK SALAM SQUAD) terima kasih banyak penulis sampaikan atas doa, semangat, dan waktunya karena telah mendengar keluh kesah penulis selama pengerjaan skripsi ini. Semoga tak ada bosan

yang tercipta. Serta semua pihak yang telah berjasa yang tidak bisa penulis sampaikan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan. Namun besar harapan kiranya dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Aamiin Ya Rabbal Alamin.

Wassalam Wr.Wb

Gowa, Juli 2017

Faradhiba Amriani



DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	Error! Bookmark not defined.
PENGESAHAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined. iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian.....	5
1. Definisi Operasional.....	5
2. Ruang Lingkup Penelitian.....	6
D. Kajian Pustaka.....	6
E. Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	10
1. Tujuan Penelitian.....	10
2. Manfaat Penelitian.....	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
A. Uraian Tanaman	12
1. Klasifikasi.....	12
2. Nama Daerah	13
3. Morfologi Tumbuhan	13
4. Kandungan Senyawa Kimia dan Kegunaan	13

B. Siklus Sel dan Apoptosis Sel	18
1. Siklus Sel	18
2. Apoptosis Sel	19
C. Kanker	21
D. Mekanisme Kanker	22
E. Mekanisme Obat Anti Kanker	23
F. Kanker Payudara	26
G. Kanker Serviks	28
H. Sel MCF-7	28
I. Sel Hela	29
J. Sel Vero	30
K. Ekstraksi	31
L. MTT Assay	32
M. Kultur Sel	32
N. Indeks Selektifitas	36
O. Tinjauan islam	37
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	40
A. Jenis Penelitian	40
1. Jenis penelitian	40
2. Lokasi penelitian	40
B. Pendekatan Penelitian	40
C. Alat dan Bahan	41
1. Alat	41
2. Bahan	41
D. Cara Kerja	41
1. Penyiapan sampel	41
2. Ekstraksi	42
3. Partisi Padat Cair	42

4. Fraksinasi.....	43
5. Penentuan Golongan Senyawa Ekstrak dan Fraksi Aktif.....	43
6. Uji Sitotoksitas Sel Kanker Hela, Sel Kanker MCF-7 dan Sel Vero.....	45
7. Perhitungan Selektifitas.....	47
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	47
A. Hasil	47
1. Ekstraksi Sampel	47
2. Hasil Partisi	47
3. Hasil Fraksinasi	47
4. Hasil Identifikasi Senyawa	48
5. Uji Sitotoksitas dan Selektifitas	49
B. Pembahasan	51
BAB V PENUTUP.....	61
A. Kesimpulan.....	61
B. Saran	61
Kepustakaan	62
LAMPIRAN.....	68
BIOGRAFI PENULIS	90



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitasnya.....	14
Tabel 2. Aktivitas dan Kegunaan Botto-Botto (<i>Chromolaena odorata</i>).....	17
Tabel 3. Hasil Partisi Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto (<i>Chromolaena odorata</i>) ...	47
Tabel 4. Hasil Fraksinasi Partisi Larut Etil Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto.....	47
Tabel 5. Hasil Identifikasi Senyawa.....	48
Tabel 6. Hasil Uji Sitotoksitas dan Selektifitas	49



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Chromolaena odorata</i> (Sumber Gambar. Koleksi Pribadi)	12
Gambar 2. Proses Siklus Sel	19
Gambar 3. Jalur Ekstrinsik dan Intrinsik Apoptosis	21
Gambar 4. Rumus Struktur Limonen	59
Gambar 5. Rumus Struktur Champtothecin	60
Gambar 6. Rumus Struktur Thalicarpin	60
Gambar 7. Ekstrak Daun Botto-botto.....	80
Gambar 8. Hasil Partisi	81
Gambar 9. Profil KLT	82
Gambar 10. Fraksinasi	83
Gambar 11. Profil KLT Fraksi	84
Gambar 12. Hasil Penggabungan Fraksi	85
Gambar 13. Hasil Identifikasi Senyawa.....	86



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kode Etik	68
Lampiran 2. Alur Penelitian.....	69
Lampiran 3. Proses Ekstraksi Sampel <i>Chromolaena odorata</i>	70
Lampiran 4. Pembuatan Larutan Uji Sitotoksitas (Pengenceran)	71
Lampiran 5. Uji MTT	72
Lampiran 6. Perhitungan Sel Hidup.....	72
Lampiran 7. Perhitungan Sel Mati	74
Lampiran 8. Perhitungan Pengenceran	75
Lampiran 9. Data Nilai Absorbansi Sel Kanker HeLa.....	76
Lampiran 10. Data Nilai Absorbansi Sel Kanker MCF-7	77
Lampiran 11. Data Nilai Absorbansi Sel Normal Vero	78
Lampiran 12. Gambar Tanaman Botto-Botto (<i>Chromolaena odorata</i>)	79
Lampiran 13. Gambar Penelitian.....	80
Lampiran 14. Data Primer Elisa Reader	87
Lampiran 15. Gambar Sel.....	88
Lampiran 16. Data Nilai Rf	89

ABSTRAK

Nama : Faradhiba Amriani
Nim : 70100113009
Judul : Skrining Partisi -Partisi dan Fraksi-Fraksi Larut Etil Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata*) Yang Paling Selektif Dalam Menghambat Pertumbuhan Sel Kanker HeLa dan Sel Kanker MCF-7

Chromolaena odorata merupakan salah satu tumbuhan yang bermanfaat sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui partisi dan fraksi apakah yang paling selektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker HeLa dan sel kanker MCF-7 dibandingkan sel normal Vero. Prosedur kerja dimulai dengan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Hasil maserasi dipartisi padat cair menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat sehingga menghasilkan partisi larut n-heksan, partisi larut etil asetat dan partisi tidak larut etil asetat. Partisi larut etil asetat difraksinasi secara Kromatografi Cair Vakum. Hasil fraksinasi menghasilkan tujuh fraksi kemudian diidentifikasi golongan senyawa kimia dan dilakukan uji aktivitas inhibisi pertumbuhan sel kanker dengan metode MTT. Dari hasil uji aktivitas inhibisi pertumbuhan sel kanker dilakukan perhitungan nilai selektifitas. Sampel dikatakan selektif jika memiliki nilai selektifitas >3 . Hasil penelitian menunjukkan bahwa partisi larut n-heksan memiliki nilai selektifitas paling tinggi terhadap sel kanker MCF-7 dengan nilai 4.185, diikuti dengan fraksi dua yang memiliki nilai selektifitas 4.002. Sedangkan pada sel kanker HeLa, nilai selektifitas paling tinggi dimiliki oleh fraksi dua dengan nilai 3.387. Dari hasil pengamatan, dapat disimpulkan bahwa partisi yang paling selektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker MCF-7 adalah partisi larut n-heksan dengan nilai selektifitas 4.185. Sedangkan, fraksi yang paling selektif dalam menghambat sel kanker HeLa dan sel kanker MCF-7 adalah fraksi dua dengan nilai selektifitas 3.387 terhadap sel kanker HeLa dan nilai selektifitas 4.002 terhadap sel kanker MCF-7. Dari hasil identifikasi senyawa, diketahui bahwa partisi larut n-heksan mengandung senyawa alkaloid dan fraksi dua mengandung senyawa alkaloid, steroid dan fenolik.

KATA KUNCI : *Chromolaena odorata*, antikanker, Uji MTT, Sel MCF7, Sel HeLa, Sel Vero

ABSTRACT

Name : Faradhiba Amriani
Nim : 70100113009
Judul : Screening Partitions and Ethyl Acetate Soluble Fractions of The Methanol Leaf Extract of Botto-Botto (*Chromolaena odorata*) The Most Selective Inhibiting Growth of Cancer Cells HeLa and Cancer Cells MCF-7

Chromolaena odorata is a useful plant as an anticancer. This study aims to determine which partitions and fractions are most selective in inhibiting the growth of cancer cells HeLa and cancer cells MCF-7 than normal cells Vero. Working procedure begins with extraction using maseration method with methanol solvent. The maceration product is partitioned using n-hexane and ethyl acetate solvent producing the n-hexane soluble partition, the ethyl acetate soluble partition and the insoluble partition of ethyl acetate. The ethly acetate soluble partition are fractionated by Liquid Vacuum Chromatography. The result of fractionation yielded seven fractions then identified chemical compound group and tested the activity of inhibition of cancer cell growth by MTT method. From the test results of inhibiton activity of cancer cell growth is calculated selectivity value. The sample is said to be selective if it has a selectivi y value >3 . The result showed that the hexane soluble partition had the highest selectivity value against MCF-7 cancer cells with 4.185 value, followed by the second fraction having selectivity value of 4.002. While in HeLa cancer cells, the hightest selectivity value is owned by second fraction with a value of 3.387. From the observations, it can be conculded that the most selective partition in inhibiting the growth of cancer cells MCF-7 is the hexane soluble partition with a selectivity value of 4.185. Meanwhile, the most selective fraction in inhibiting HeLa cancer cells and MCF-7 cancer cells was a second fraction with a 3.387 selectivity value against HeLa cancer cells and selectivity value of 4.002 against MCF-7 cancer cells. From the result of identification of the compound, it is known that the n-hexane soluble partition contains the alkaloid compound and the second fraction contains alkaloid, steroid, and phenolic compound.

Key Word : *Chromolaena odorata*, anticancer, MTT Tested, HeLa Cancer Cells, MCF-7 Cancer Cells, Vero Normal Cells

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker adalah kelompok penyakit yang ditandai dengan tidak terkendalinya pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal tubuh. Jika penyebaran tidak dapat terkendali, maka dapat menyebabkan kematian (Society, 2015)

Di seluruh dunia, kanker merupakan salah satu penyebab kematian yang tinggi dibandingkan dengan penyakit AIDS, TBC, dan malaria. Pada negara dengan pendapatan tinggi, kanker merupakan penyebab kematian tertinggi kedua setelah penyakit jantung. Sedangkan, pada negara dengan pendapatan rendah, kanker merupakan penyebab kematian tertinggi ketiga setelah penyakit jantung dan infeksi akibat parasit (Society, 2015)

Menurut data IARC (*International Agency for Research on Cancer*), pada tahun 2012 terdapat 14,1 juta kasus kanker baru, 8,2 juta kematian akibat kanker, dan 32,6 juta orang hidup dengan kanker (World Health Organization, 2012). Setiap tahun, *American Cancer Society* melakukan pendataan mengenai jumlah kasus kanker baru dan jumlah kematian akibat kanker yang terjadi di Amerika Serikat. Pada tahun 2016, terdapat 1.685.210 jumlah kasus kanker baru dan 595.690 kematian akibat kanker yang terjadi di Amerika Serikat. Kanker payudara ditahun 2016 menempati urutan pertama dengan jumlah kasus baru terbanyak dengan persentase

29%, sedangkan untuk tingkat kematian berada pada urutan kedua dengan persentase 14% (Siegel, et al., 2016)

Berdasarkan data Riskesdas, penyakit kanker pada perempuan cenderung lebih tinggi daripada laki-laki. Di Indonesia sendiri, penyakit kanker paru, serviks dan payudara merupakan penyakit dengan insiden paling besar (Depkes RI, 2013).

Selama 6 tahun terakhir di RS Kanker Dharmas Jakarta, kanker payudara menempati urutan pertama dengan frekuensi relatif yaitu sebesar 18,6% dan mengalami peningkatan setiap tahunnya (Depkes RI, 2013). Kanker serviks menempati urutan kedua dari 10 kanker terbanyak dengan insidens sebesar 12,7% berdasarkan data dari Patologi Anatomi tahun 2010. Kematian terkait kanker serviks berkisar 200.000 kematian dan 46.000 diantaranya adalah wanita usia 15-49 tahun (Depkes RI, 2013).

Pengobatan kanker saat ini seperti pemberian obat antikanker dan operasi tergolong sangat mahal terlebih lagi untuk kalangan bawah. Meskipun telah melakukan berbagai pengobatan medis, tidak jarang pasien bisa berhasil lepas dari penyakit kanker. Di tengah keputusasaan itulah muncul harapan baru, yakni pengobatan secara tradisional

Banyak penelitian dilakukan untuk mencari senyawa antikanker baru dengan harapan sifat yang lebih baik. Selektifitas suatu obat dapat digunakan sebagai tolak ukur baik dan buruknya suatu obat serta keamanannya (Badisa, et al., 2009). Semakin kecil angka indeks selektifitas obat antikanker yang ada saat ini, artinya efek

samping yang ditimbulkan cukup banyak, menyebabkan penderita kanker banyak yang menghentikan kemoterapi. Keputusan untuk menerima kemoterapi melibatkan pertimbangan yang cermat baik mengenai manfaat maupun resiko terapi yang mungkin terjadi. Efek samping pada kemoterapi mencakup dua macam yakni efek samping jangka pendek dan efek samping jangka panjang. Efek samping jangka pendek adalah efek samping yang dihadapi selama kemoterapi. Sedangkan efek samping jangka panjang adalah komplikasi yang kemudian muncul setelah pengobatan. Efek samping jangka pendek meliputi emesis, mual, stomatitis, alopesia, mialgia, sakit saraf, dan kelelahan. Sedangkan efek samping jangka panjang yang mungkin terjadi yakni infertilitas, penambahan berat badan, disfungsi jantung, leukemia, dan disfungsi kognitif (Patridge & Burstein, 2001). Banyaknya efek samping yang timbul akibat kemoterapi mendorong masyarakat berbondong-bondong datang ke pengobatan herbal untuk mengurangi dan menghilangkan penderitannya. Banyak sekali obat herbal Indonesia telah digunakan secara tradisional untuk mengatasi penyakit kanker. Namun demikian, usaha untuk mencari senyawa antikanker baru dari bahan alam masih terus dilakukan secara intensif oleh para peneliti/akademisi (Wahyuningsih, et al., 2013)

Saat mengalami sakit, manusia harus senantiasa berikhtiar mencari pengobatan karena Allah SWT tidak akan menurunkan penyakit apabila juga tidak menurunkan obatnya, sebagaimana hadis yang diriwayatkan oleh Abu Hurairah ra dari Nabi SAW bersabda:

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ
مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya:

“ Allah tidak akan menurunkan penyakit melainkan menurunkan obatnya juga” (HR. Bukhari)

Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak etanol dari daun botto-botto memiliki aktivitas sebagai antikanker. Ekstrak etanol dari daun botto-botto memiliki aktivitas sebagai antiprotozoa dan anti mikroba. Selain itu, juga memiliki aktivitas untuk melawan MDA-MB-231, PC-3, MCF-7, HT-29, 4TI, dan RAW-267 (Bi-Koffi, et al., 2012). Flavonoid glikosida yang diisolasi dari ekstrak etanol daun botto-botto diujikan terhadap *cell line* LLC dan HL-60, hasilnya menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat melawan LLC dan HL-60 dengan IC_{50} 28,2 dan 11,6 μ m (Hung, et al., 2011)

Berdasarkan fakta tersebut maka dapat dikatakan bahwa daun botto-botto (*Chromolaena odorata*) memiliki potensi sebagai obat kanker. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui partisi dan fraksi apakah yang paling selektif dalam menghambat aktivitas sel kanker Hela dan sel MCF-7.

B. Rumusan Masalah

Apakah partisi dan fraksi yang paling selektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker HeLa dan sel kanker MCF-7?

C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian

1. Definisi Operasional

- a. Skrining Partisi adalah cara yang dilakukan untuk mengetahui partisi yang paling selektif yang terdapat pada ekstrak dalam menghambat sel kanker.
- b. Skrining Fraksi adalah cara yang dilakukan untuk mengetahui fraksi yang paling selektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.
- c. Sel MCF-7 adalah sel kanker yang berasal dari jaringan payudara seorang wanita kaukasian. Dalam penelitian ini sel yang digunakan diambil dari koleksi fakultas kedokteran UGM
- d. Sel HeLa adalah sel kanker yang berasal dari karsinoma serviks manusia bernama Henrietta Lacks. Dalam penelitian ini sel yang digunakan diambil dari koleksi fakultas kedokteran UGM
- e. Sel Vero adalah sel yang berasal dari ginjal monyet hijau Afrika (*Cercopithecus aethiops*). Dalam penelitian ini sel yang digunakan diambil dari koleksi fakultas kedokteran UGM
- f. Ekstraksi adalah proses untuk menarik senyawa kimia yang terkandung di dalam simplisia menggunakan pelarut metanol
- g. Ekstrak adalah hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol
- h. Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya
- i. Fraksi adalah hasil yang diperoleh dari proses fraksinasi

j. Partisi adalah hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi padat-cair

2. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini menggunakan Daun botto-botto (*Chromolaena odorata*) sebagai sampel yang akan dilihat aktivitasnya terhadap sel kanker Hela, sel kanker MCF-7, dan sel normal Vero

D. Kajian Pustaka

1. (Adedapo, et al., 2016), “*Evaluation of anticancer properties of the methanol leaf extract of Chromolaena odorata on HT-29 cell line*”. Di dalam penelitiannya, Adedapo ingin mengetahui pengaruh ekstrak metanol daun botto-botto terhadap proliferasi sel HT-29 yang diselidikinya menggunakan metode pengujian MTT (3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida). Sel-sel disimpan pada suspensi dengan 5×10^4 (100 μ l/well), lalu ditambahkan dengan berbagai macam konsentrasi ekstrak (100-700 μ g/mL) dan diinkubasi selama 23,48 dan 72 jam. Setelah itu VEGF dan ET-1 ditambahkan pada ekstrak yang diinkubasi pada waktu yang berbeda. Setelah 72 jam, pengujian MTT menunjukkan bahwa ekstrak memiliki efek penghambatan yang terbaik pada konsentrasi terendah. Ketika ekstrak tanaman diinkubasi terpisah dengan sel kanker pada 200 dan 800 μ g/mL, hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi terakhir lebih kuat dalam penghambatan sel tetapi ketika diinkubasi dengan VEGF dan ET-1 saat 24 jam pertama, ekstrak dengan 200 μ g/mL ditambah dengan ET-1 lebih berpotensi. Kesimpulannya menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun botto-botto menyebabkan penghambatan pada cell line HT-

29 setelah 72 jam, tetapi jika dibandingkan bersama dengan mitogen (VEGF dan ET-1) efek pada sel kanker menunjukkan bahwa mitogen mengganggu kemampuan ekstrak tumbuhan untuk menyebabkan penghambatan pada sel kanker.

Jurnal penelitian di atas mempelajari sifat dari daun botto-botto terhadap sel kanker HT-29 menggunakan pengujian MTT. Sedangkan penulis akan melakukan pengujian mengenai keselektifan daun botto-botto terhadap sel kanker HeLa, sel kanker MCF7 dan sel normal vero. Penggunaan sel vero adalah untuk mengetahui apakah *Chromolaena odorata* juga toksik dan menyerang sel normal atau tidak.

2. (Zhang, et al., 2015),” *A new Bidihydroflavone Isolated From Chromolaena odorata*. Daun botto-botto telah memiliki berbagai macam aktivitas. Ekstrak etanol dari daun botto-botto menunjukkan bahwa ia mampu untuk melawan MDA-MB-231, PC-3, MCF-7, HT-29, 4TI, dan RAW-267. Selain itu, ia juga memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antiprotozoa dan antimikroba. Pada penelitian sebelumnya, dari ekstrak diklorometan telah didapatkan 17 komponen senyawa kimia. Kemudian, pada penelitian ini dilanjutkan dengan mengisolasi senyawa bidihidroflavon yang telah didapatkan dengan menggunakan 1D dan 2D NMR. Senyawa bidihidroflavon diisolasi dari *Chromolaena odorata* dan didapatkan senyawa 6-Metilenebis(5,7-dihidroksi-4'-metoxidiidroflavon).

Jurnal penelitian diatas menemukan senyawa bidihidroflavon baru dari tumbuhan *Chromolaena odorata*, dimana tumbuhan ini telah memiliki banyak aktivitas. Sedangkan pada penelitian penulis, aktivitas antikanker dari tumbuhan *Chromolaena*

odorata diuji keselektifitasannya terhadap sel kanker HeLa, sel kanker MCF7, dan sel normal vero. Penggunaan sel vero untuk mengetahui apakah *Chromolaena odorata* juga toksik dan menyerang sel normal atau tidak.

3. (Prabhu & Ravi, 2012), "Isolation of a novel triterpen from the Essential oil of fresh leaves of *Chromolaena odorata* and its in-vitro cytotoxic activity against HepG2 cancer cell line" Minyak atsiri yang terdapat pada daun *Chromolaena odorata* didapatkan menggunakan metode distilasi uap. Minyak atsiri ini kemudian diisolasi menggunakan kromatografi kolom dan didapatkan komponen senyawa kimia yakni derivat triterpen. Derivat triterpen ini kemudian dikarakterisasi menggunakan IR, H-NMR, dan C-NMR. Setelah karakterisasi, dilakukan uji sitotoksitas apakah senyawa tersebut memiliki aktivitas untuk melawan HepG2 menggunakan metode MTT. Hasil sitotoksitas menunjukkan IC_{50} yakni 206,7 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel kanker HepG2.

Pada jurnal penelitian di atas, diketahui kandungan senyawa kimia dari minyak atsiri yang terdapat ekstrak *Chromolaena odorata* berpotensi sebagai antikanker. Penelitian tersebut menggunakan sel kanker kolon HepG2 sebagai sel uji. Sedangkan penelitian yang akan dilakukan penulis, menggunakan fraksi dari tumbuhan *Chromolaena odorata* yang akan diuji keselektifannya terhadap tiga macam sel yakni sel kanker HeLa, sel kanker MCF7, dan sel normal vero. Penggunaan sel vero untuk mengetahui apakah *Chromolaena odorata* juga toksik dan menyerang sel normal atau tidak.

4. (Kouame, et al., 2012), "*Phytochemicals Isolated from Leaves of Chromolaena odorata: Impact on Viability and Clonogenicity of Cancer Lines*". Pada jurnal ini, dibuat ekstrak etanol dari daun botto-botto kemudian difraksinasi. Setelah melakukan fraksinasi, didapatkan fraksi larut n-heksan,. Fraksi larut n-heksan ini kemudian diisolasi hingga didapatkan tiga senyawa. Dua dari ketiga senyawa tersebut yakni 5-hidroksi-7,40-dimetoxiflavanon dan 20-hidroksi-4,40,50,60-tetramethoxikalkon yang sebelumnya telah diidentifikasi pada daun *Chromolaena odorata*. Ketiganya kemudian dikarakterisasi menggunakan spektroskopi dan ditemukan 1,6-dimetil-4-(1-metiletil) naftalena (cadalene) yang sebelumnya tidak terisolasi. Ketiga senyawa ini diuji sitotoksisitas dan antikankernya. Hasilnya menunjukkan bahwa 2'-hidroksi-4,4',5',6'-tetramethoxikalkon dapat menjadi sitotoksik di 20 μ m pada lini sel Cal51, MCF7, dan MDAMB-468, dan bertindak sinergis dengan ABT737 Bcl2 inhibitor untuk meningkatkan apoptosis pada sel kanker payudara Cal51.

Pada jurnal penelitian di atas, tumbuhan botto-botto diuji sitotoksisitasnya terhadap sel Cal51, MCF7, dan MDAMB-468. Sedangkan pada penulis ingin melakukan pengujian mengenai keselektifan daun botto-botto terhadap sel kanker Hela, sel kanker MCF7, dan sel normal vero. Penggunaan sel vero untuk mengetahui apakah *Chromolaena odorata* juga toksik dan menyerang sel normal atau tidak.

5. (Hung, et al., 2011). "*Flavonoid Glycosides from Chromolaena odorata Leaves and Their in Vitro Cytotoxic Activity*". Pada jurnal ini, dilakukan isolasi

terhadap ekstrak etanol 70% dari daun *Chromolaena odorata* dan didapatkan dua senyawa baru flavonoid glikosid dan sebelas senyawa yang telah diketahui. Flavonoid glikosid ini kemudian dielusidasi menggunakan 1D dan 2D NMR untuk mengetahui studi kimianya. Pada isolat yang baru dilakukan uji sitotoksitas apakah ia memiliki aktivitas melawan LLC dan sel kanker HI-60. Komponen pertama menunjukkan aktivitas untuk melawan LLC dan HL-60 dengan IC₅₀ 28,2 μ m dan 11,6 μ m. Sedangkan komponen kedua menunjukkan aktivitas penghambatan dari HL-60 dengan hasil IC₅₀ yakni 10,8 μ m.

Pada jurnal penelitian di atas, senyawa dari ekstrak etanol tumbuhan *Chromolaena odorata* diuji aktivitasnya terhadap sel kanker LLC dan sel kanker HI-60. Sedangkan pada penelitian penulis, menggunakan fraksi dari ekstrak metanol daun *Chromolaena odorata* untuk diuji keselektifitasannya terhadap tiga sel yakni sel kanker HeLa, sel kanker MCF7, dan sel normal vero. telah diketahui kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai antikanker. Penggunaan sel vero untuk mengetahui apakah *Chromolaena odorata* juga toksik dan menyerang sel normal atau tidak.

E. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Tujuan Penelitian

Menentukan partisi dan fraksi larut etil asetat apakah dari ekstrak metanol daun botto-botto (*Chromolaena odorata*) yang paling selektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker Hela dan sel kanker MCF7

2. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi secara ilmiah kepada masyarakat tentang khasiat dari daun botto-botto (*Chromolaena odorata*) sebagai antikanker sehingga dapat meningkatkan kepercayaan dan ilmu pengetahuan masyarakat tentang khasiat dari *Chromolaena odorata*. Selain itu, dapat memberikan gambaran tentang senyawa baru yang terkandung pada *Chromolaena odorata* yang berfungsi sebagai antikanker.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Uraian Tanaman*

1. Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Division : Spermatophyta
Class : Dicotyledonae
Ordo : Asterales
Family : Asteraceae
Genus : *Chromolaena*
Spesies : *Chromolaena odorata* (L) (Tjitrosoepomo, 2010)



Gambar 1. *Chromolaena odorata* (Sumber Gambar. Koleksi Pribadi)

2. Nama Daerah

Chromolaena odorata (L) dikenal di Indonesia dan negara lain dengan nama yang berbeda. Di Makassar khususnya, spesies ini dikenal dengan beberapa nama, seperti Botto-botto, Laruna, dan Gondrong-gondrong. Beberapa daerah lain misalnya, memiliki nama tersendiri, Kopasanda di Maros, Ki Rinyuh di Sunda, Tekelan di Jawa, *Siam Weed* atau *Jack in the Bush* di Inggris (Prawiradiputa, 2007)

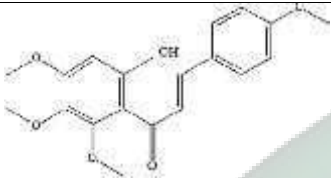
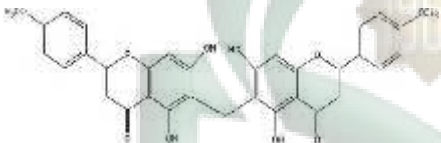


3. Morfologi Tumbuhan

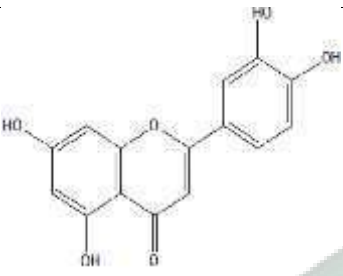
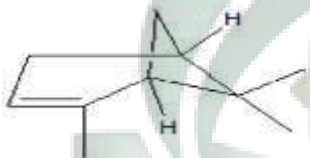
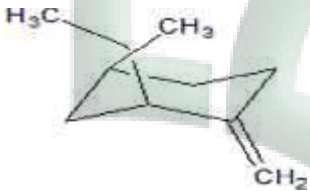
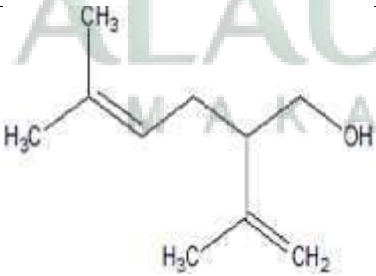
Botto-botto (*Chromolaena odorata* L. *Asteraceae*: *Asterales*) dalam bahasa inggris disebut *siam weed*, merupakan gulma padang rumput yang penyebarannya sangat luas di Indonesia. Gulma ini diperkirakan sudah tersebar di Indonesia sejak tahun 1910-an, tidak hanya di lahan kering atau pegunungan, tetapi juga di lahan rawa dan lahan basah lainnya. Botto-botto termasuk keluarga *Asteraceae/Compositae*. Daunnya berbentuk oval, bagian bawah lebih lebar, makin ke ujung makin runcing. Panjang daun 6 -10 cm dan lebarnya 3- 6 cm, tepi daun bergerigi, menghadap ke pangkal. Karangan bunga terletak di ujung cabang (terminal) (Prawiradiputa, 2007).

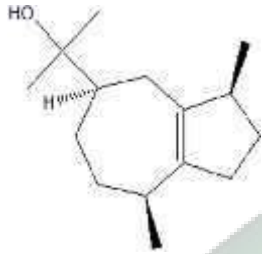

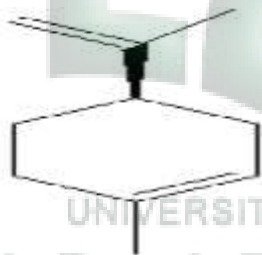
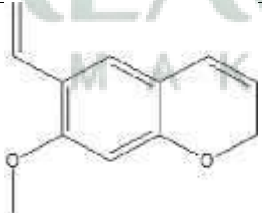
4. Kandungan Senyawa Kimia dan Kegunaan

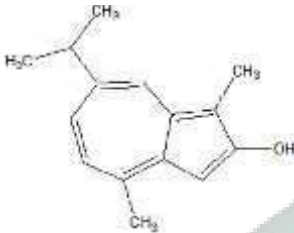

Chromolaena odorata diketahui mengandung senyawa fitokimia antara lain: quinon, steroid, terpenoid, glikosida jantung, saponin, alkaloid, tannin, flavonoid, flavonon, flavon, flavonoid glukosid, pirolizidin alkaloid, dan essensial oil (Algaba, et al., 2015)

Tabel 1. Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitasnya

No.	Senyawa	Aktifitas	Referensi
1.	 <p>2'-hydroxy-4,4',5',6'-tetramethoxychalcon</p>	Antikanker	(Kouame, et al., 2012)
2.	 <p>6-methylenebis(5,7-dihydroxy-4-methoxyflavanone)</p>	Memiliki efek transaktivasi terhadap PPAR γ	(Zhang, et al., 2015)
3.	 <p>Arsetin</p>	Antikanker (Melawan NCI-H187)	(Suksamrarn, et al., 2004)
4.	 <p>Isokuersetin</p>	Antimikroba (Melawan <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	(Suksamrarn, et al., 2004)

5.	 <p>Luteolin</p>	Antikanker (Memiliki kemampuan melawan NCI-H187 dan MCF7)	(Suksamrarn, et al., 2004)
6.	 <p>α-pinene</p>	-	(Joshi, 2013)
7.	 <p>β-pinene</p>	-	(Joshi, 2013)
8.	 <p>Tetrahydro lavandulol</p>	-	(Joshi, 2013)

9.	 <p>Guaiol</p>	-	(Joshi, 2013)
10.	 <p>Himachalol</p>	-	(Joshi, 2013)
11.	 <p>Limonene</p>	Sebagai Antikanker	(Joshi, 2013)
12.	 <p>Androencecalinol</p>	-	(Joshi, 2013)

13.	 <p>7-Isopropyl-1,4-dimethyl-2-azulenol</p>	-	(Joshi, 2013)
14.	 <p>9,10-Dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene</p>	-	(Joshi, 2013)

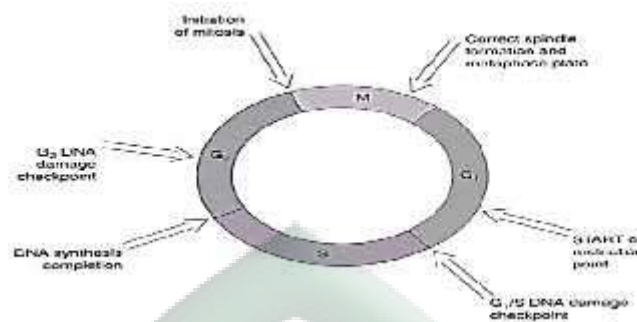
Tabel 2. Aktivitas dan Kegunaan Botto-Botto (*Chromolaena odorata*)

No.	Aktifitas Farmakologi	Penggunaan	Referensi
1	Infeksi Kulit	Daun	(Adedapo, et al., 2016)
2	Luka Bakar	Daun	(Zhang, et al., 2015)
3	Antiinflamasi	Daun	(Zhang, et al., 2015)
4	Antiprotozoa dan Antimikroba	Ekstrak Etanol	(Zhang, et al., 2015)
5	Antioksidan	Ekstrak Kloroform	(Rao, et al., 2010)
6	Antifungi	Daun	(Prabhu & Ravi, 2012)
7	Aktivitas Sebagai Antikanker MCF7	Ekstrak Etil asetat	(Harun, et al., 2012)

B. Siklus Sel dan Apoptosis Sel

1. Siklus Sel

Siklus sel melibatkan serangkaian peristiwa yang mengakibatkan duplikasi DNA. Dalam sel normal proses ini dapat dikendalikan dengan hati-hati, tetapi pada sel tumor mutasi pada gen terkait siklus sel menghasilkan deret DNA yang rusak pada sel melalui siklus tersebut. Siklus dibagi menjadi empat tahap yang berbeda yakni fase gap (G1), replikasi DNA (S), fase gap kedua (G2) bersama-sama membentuk interfase dan fase mitosis (M). Panjang siklus sel sangat bervariasi, tetapi biasanya sekitar 16-24 jam. Dalam G1, sel bersiap-siap untuk mensintesis DNA dan biosintesis baik RNA dan protein terjadi. Selama fase S, DNA direplikasi dan histon disintesis. Pada akhir fase S, isi DNA dari sel telah dua kali lipat dan kromosom telah direplikasi. Pada fase G2 sel bersiap-siap untuk pembelahan sel, kompleks DNA direplikasi dengan protein dan biosintesis dilanjutkan. Nukleus dan sitoplasma akhirnya memisah selama mitosis dan dua sel yang dihasilkan dapat memulai interfase dari siklus sel baru jika kondisi sel cocok untuk pertumbuhan yang lebih lanjut. Dengan tidak adanya mitogen atau ketika nutrisi habis, sel dapat memasuki fase istirahat atau disebut juga fase G0 (Macdonald, et al., 2005)



Gambar 2 Proses Siklus Sel

Sumber Gambar. (Macdonald, et al., 2005)

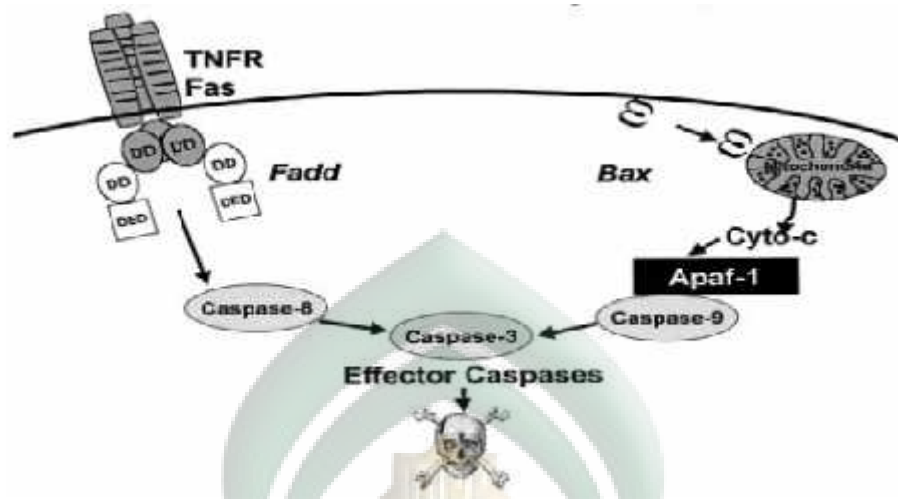
2. Apoptosis Sel

Apoptosis adalah fenomena morfologi. Karakteristik dari apoptosis sel termasuk kondensasi kromatin, fragmentasi nuklir (*pyknosis*), membran plasma *blebbing*, dan penyusutan sel. Akhirnya sel-sel itu menjadi fragmen kecil yang dikelilingi oleh membran yang kemudian dibersihkan oleh fagositosis tanpa memicu respon inflamasi. (Lambert & Lecture, 2000).

Apoptosis sel terjadi karena teraktivasinya caspase. Meskipun banyak jalur untuk mengaktifkan caspase, hanya ada dua yang akan dijelaskan secara rinci. Jalur pertama yakni berada pada keluarga reseptor *Tumor Receptors Family* (TNF). Pada jalur ini ia menggunakan aktivasi caspase sebagai sinyal mekanisme, sehingga menghubungkan ligan yang nantinya akan mengikat pada permukaan sel dan akan memicu induksi apoptosis. Jalur lainnya melibatkan partisipasi dari mitokondria,

yang melepaskan caspase yang akan mengaktifkan protein ke dalam sitosol sehingga memicu terjadinya apoptosis (Lambert & Lecture, 2000)

Caspase 8 mewakili caspase apikal pada jalur reseptor kematian, sedangkan caspase 9 berfungsi sebagai caspase apikal di jalur mitokondria. Pada jalur ekstrinsik, jaringan dari interaksi protein akan melibatkan protein adaptor seperti Fadd (mort1) dan secara tidak langsung menghubungkan domain sitosolik reseptor kematian TNF seperti Fas (Apo1/CD95) ke bentuk zymogen caspase 8, yang menghasilkan rekrutmen pro-caspase 8 sampai kematian reseptor kompleks ligan dan menyebabkan aktivasi caspase 8. Pada jalur intrinsik, pelepasan sitokrom c dari mitokondria akan memicu aktivasi caspase dengan mengikat protein pengaktif caspase Apaf-1. Protein Apaf-1 biasanya berada dalam konformasi tidak aktif di dalam sitosol, namun pada pengikatan sitokrom c, pengikatan domain oligomerisasi oleh ATP/dATP di dalam protein ini memediasi agregasi Apaf-1. Kompleks oligomerisasi kemudian mengikat pro-caspase 9 dan memfasilitasi pengolahan trans dari caspase 9 zymogen melalui mekanisme kedekatan yang diinduksi. Namun tidak seperti caspase 8, dimana prodomain dari N-terminal zymogen dibubarkan dan protease aktif dilepaskan ke dalam sitosol. Enzim caspase 9 harus tetap terikat pada Apaf -1 secara penuh dan prodomain N-terminalnya dipertahankan (Lambert & Lecture, 2000).



Gambar 3. Jalur Ekstrinsik dan Intrinsik Apoptosis

Sumber Gambar. (Lambert & Lecture, 2000)

C. Kanker

Kanker disebut juga keganasan atau tumor ganas adalah istilah untuk menjelaskan suatu penyakit dimana sel-sel tubuh yang normal berubah menjadi abnormal. Sel-sel abnormal tersebut bermultiplikasi tanpa kontrol, serta dapat menginvasi jaringan sekitarnya (Nurwijaya, 2010).

Secara umum, kanker dapat menyerang setiap jaringan tubuh manusia kecuali rambut dan kuku. Organ tubuh manusia yang berpotensi terkena kanker, antara lain, paru-paru, payudara, sistem reproduksi (uterus, serviks, ovarium pada wanita, dan prostat pada pria), usus besar (kolon dan rektum), lambung, kulit, nasofaring, kelenjar getah bening, hati, otak, darah, dan rongga mulut (Nurwijaya, 2010).

Kanker timbul akibat kerusakan DNA yang disebabkan oleh lingkungan tertentu. Paparan lingkungan penyebab kanker termasuk zat seperti bahan kimia dalam asap tembakau dan radiasi, seperti sinar ultraviolet dari matahari. Secara umum, sel-sel kanker memiliki perubahan yang lebih, seperti mutasi pada DNA. Perubahan genetik terhadap kanker cenderung dipengaruhi oleh proto-onkogen, gen supresor tumor dan gen perbaikan DNA. Proto-onkogen terlibat dalam pertumbuhan sel normal. Namun, ketika gen ini menjadi lebih aktif ia akan menjadi penyebab kanker (onkogen). Gen supresor tumor terlibat dalam mengendalikan pertumbuhan dan pembelahan sel. Sel dengan perubahan tertentu dapat membelah secara tidak terkendali (NCI, n.d.)

D. Mekanisme Kanker

Kanker memiliki istilah karsinogenesis, yaitu proses perubahan menjadi kanker. Proses ini melalui dua tahap, yaitu proses inisiasi kanker dan promosi kanker.

1. Inisiasi kanker

Pada tahap inisiasi, zat penimbul kanker mulai beraktivitas mengubah susunan DNA fungsional. Akibat adanya aktivitas tersebut, terjadilah mutasi gen sehingga menyebabkan gen berbeda dengan sebelumnya. Gen yang berfungsi menekan atau menahan pertumbuhan tumor mengalami perubahan dan tidak berfungsi lagi. Bila sudah mengalami perubahan maka tidak ada lagi yang menahan pertumbuhan sel kanker (Ariani, 2015)

2. Promosi

Pada tahap ini terjadi proses floriferasi, metastatis dan neoangiogenesis (Ariani, 2015)

- a) Floriferasi. Fase sel mengalami pengulangan siklus sel tanpa hambatan secara kontinu secara mengulang.
- b) Metastatis. Penyebab utama dari kenaikan morbiditas dan mortalitas pada pasien dengan keganasan. Proses ini melibatkan interaksi kompleks tidak hanya ditentukan oleh jenis sel kanker itu sendiri namun membran, reseptor endotel serta respon kekebalan kanker berpartisipasi. Mekanisme ini merupakan indikasi bahwa pasien kanker gagal untuk mengatasi dan memblokir penyebaran sel kanker.
- c) Neoangiogenesis. Pembangun atau agen transinogenik sangat beraneka ragam, di antaranya paparan sinar ultraviolet, radiasi sinar gamma, merkuri, asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pengawet makanan seperti natrium benzoat, pewarna makanan, bumbu penyedap makanan yang dapat mengakibatkan mutasi. Neoangiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru yang tidak dibutuhkan oleh tubuh sehingga sempurna kanker sebagai jaringan dalam tubuh

E. Mekanisme Obat Anti Kanker

Obat antikanker adalah senyawa kemoterapeutik yang digunakan untuk pengobatan tumor yang membahayakan kehidupan (kanker). Tujuan utama

pengobatan kanker adalah merusak secara selektif sel tumor yang berbahaya tanpa mengganggu sel normal.

Obat antikanker dibagi menjadi lima kelompok, yaitu:

1. Obat pengalkil

Digunakan secara luas pada kemoterapi kanker. Obat ini bereaksi dengan basa-basa pada DNA dan mencegah pembelahan sel dengan membuat ikatan silang dari dua heliks ganda. Obat-obat pengalkil dengan mudah membentuk ikatan kovalen. Golongan obat pengalkil adalah klormetin, siklofosfamid, klorambusil, busulfan, dan sisplatin.

2. Antibiotik sitotoksik

Beberapa antibiotik yang diisolasi dari berbagai *Streptomyces* juga berinteraksi dengan DNA dan digunakan secara luas sebagai obat antikanker. Golongan antibiotik meliputi doksorubisin, daktinomisin, bleomisin, mitomisin, plikamisin.

3. Antimetabolit

Beberapa obat sitotoksik bekerja dengan turut terlibat dalam sintesis DNA. Obat-obat sitotoksik ini adalah antimetabolit dan menghambat sintesis purin dan pirimidin. Salah satunya adalah antagonis asam folat (metotreksat), secara kompetitif menghambat dihidrofolat reduktase dan mencegah regenerasi asam tetrahidrofolat, koenzimnya, dan metilen tetrahidrofolat, yang penting untuk perubahan asam

deoksiridilat menjadi asam timidilat. Karena sel-sel yang membelah dengan cepat membutuhkan banyak sekali asupan deoksitimidilat untuk sintesis DNA, metotreksat mencegah pembelahan sel. Sedangkan antipirimidin (flourourasil) diubah menjadi asam flourodeoksiuridilat yang menghambat timidilat sintetase, yaitu enzim yang bertanggung jawab untuk mengubah deoksiuridilat menjadi asam timidilat. Flourourasil mengganggu sintesa DNA dengan menurunkan availabilitas asam timidilat.

4. Antibodi monoklonal

Merupakan obat baru yang bereaksi dengan antigen yang diekspresikan secara khusus pada sel kanker. Bagian Fc dari antibodi akan mengaktifasi mekanisme imun pendatang yang membunuh sel kanker. Trastuzumab mempunyai sasaran faktor pertumbuhan epidermal manusia (HER2/neu) dan digunakan untuk terapi kanker payudara metastatik. Rituximab melisis limfosit sel β dengan melekat pada protein permukaan (CD20). Rituximab digunakan untuk terapi limfoma sel β .

5. Hormon

Hormon steroid dan antagonis hormon sering digunakan pada terapi kanker. Glukokortikoid (misalnya prednisolon) menghambat pembelahan sel dengan menghambat sintesis DNA. Glukokortikoid digunakan luas pada terapi leukemia, limfoma, dan kanker payudara. Pertumbuhan beberapa tumor, khususnya karsinoma payudara dan prostat, sebagian tergantung pada hormon. Tamoksifen, suatu antagonis

estrogen, digunakan secara luas untuk terapi adjuvan setelah pembedahan kanker payudara dan untuk terapi kanker payudara pascamenopause yang bermetastasis. Imunosupresan digunakan untuk mencegah penolakan jaringan setelah transplantasi organ dan untuk mengobati penyakit autoimun serta kolagen. Imunosupresan mempunyai efek samping serius dan seperti obat sitotoksik, meningkatkan kerentanan terhadap infeksi yang menyebar dengan cepat (Neal, 2005)

F. Kanker Payudara

Kanker payudara adalah kanker yang berasal dari kelenjar, saluran kelenjar, dan jaringan penunjang payudara. Sejumlah sel di dalam payudara tumbuh yang berkembang secara tidak terkendali inilah yang disebut kanker payudara (Ariani, 2015). Adapun jenis-jenis kanker payudara antara lain:

1. Karsinoma in situ

Kanker payudara yang masih berada ditempatnya, belum menyebar dan menyusup keluar dari tempat asal tumbuh.

2. Karsinoma duktal

Kanker yang tumbuh pada saluran yang melapisi yang menuju ke puting susu

3. Karsinoma lobuler

Kanker yang tumbuh di dalam kelenjar susu dan biasanya tumbuh atau diderita oleh perempuan yang telah memasuki masa menopause

4. Karsinoma invasif

Kanker yang telah menyebar dan merusak jaringan lainnya, bisa saja terlokalisir (terbatas pada payudara) maupun metastatik (menyebar ke bagian lainnya).

5. Karsinoma moduler.

Kanker yang tumbuh di kelenjar susu

6. Karsinoma tubuler

Kanker yang berasal dari kelenjar susu

(Ariani, 2015)

Kanker payudara menyebar dengan tiga cara penting yakni:

1. Sel yang rusak bereplikasi, menciptakan sel yang lebih rusak dan menyebabkan pertumbuhan tumor. Sel sehat adalah dasar blok bangunan semua jaringan dan organ dalam tubuh. Tapi ketika DNA sel rusak, sel yang bermutasi mulai bereproduksi dengan cepat. Pertumbuhan sel agresif bisa membentuk tumor dan bisa berkembang menjadi penyakit kanker payudara.

2. Hormon dan bahan kimia tubuh dapat mempercepat pertumbuhan beberapa tumor. Pertumbuhan dan penyebaran kanker payudara bisa sulit dipahami karena pertumbuhan sel kanker sering didorong oleh bahan kimia normal dari tubuh seperti estrogen, progesterone, dan gen HER2. Reseptor HER2 yang sehat adalah protein yang membantu mengatur bagaimana sel payudara tumbuh, membelah dan

memperbaiki dirinya sendiri. Namun, sekitar seperempat dari semua pasien kanker payudara memiliki gen HER2 yang tidak berfungsi dengan baik.

3. Kelenjar getah bening dan pembuluh darah dapat membawa kanker ke daerah lain di tubuh. Serupa dengan bagaimana sistem peredaran darah mendistribusikan unsur-unsur ke seluruh tubuh, sistem getah bening mengangkut sel dan cairan penangkal penyakit (NBCF, 2016).

G. Kanker Serviks

Kanker serviks dikenal juga dengan istilah kanker rahim. Kanker ini terjadi pada daerah leher rahim yaitu daerah pada organ reproduksi perempuan yang merupakan pintu masuk ke arah rahim. Letaknya di antara rahim (uterus) dengan liang senggama perempuan (vagina) (Ariani, 2015).

Human Papiloma Virus (HPV) ditemukan pada sekitar 99% kanker serviks. Ada lebih dari 100 jenis HPV yang berbeda, yang sebagian besar dianggap beresiko rendah dan tidak menyebabkan kanker serviks. Lebih dari 70 persen kasus kanker serviks dapat dikaitkan dengan dua jenis virus, HPV-16 dan HPV-18 sering disebut sebagai jenis HPV beresiko tinggi (NCCC, 2016).

H. Sel MCF-7

Michigan Cancer Foundation-7 adalah sel kanker payudara yang memiliki reseptor positif endogen, dalam hal ini estrogen tersebut dapat menstimulasi proliferasi (perbanyak) sel yang telah mengalami mutasi. Ciri khas sel kanker

adalah mengalami proliferasi yang cepat. Proliferasi pada sel kanker adalah pertumbuhan tidak terkendali dan pembelahan tanpa batas (Nugraherni, et al., 2013)

Sel kanker MCF7 memiliki karakteristik overekspresi PgP (Davis, et al., 2003), overekspresi Bcl-2 dan tidak mengekspresikan caspase-3 sehingga mampu menghindari apoptosis (Davis, et al., 2003). Sel MCF7 adalah jenis sel yang mengekspresikan ER terutama ER *alfa* (ER- α) (Zampieri, et al., 2002)

I. Sel Hela

Sel Hela adalah sel yang berasal dari sel-sel kanker serviks yang diambil dari seorang penderita kanker serviks bernama Henrietta Lacks. Sel ini bersifat immortal dan produktif sehingga banyak digunakan dalam penelitian ilmiah (Rahbari, et al., 2009).

Sel HeLa melakukan proliferasi dengan sangat cepat dibandingkan dengan sel kanker lainnya. Sel HeLa mempunyai telomerase aktif selama pembelahan sel, sehingga mencegah pemendekan telomere yang menyangkut penuaan dan kematian sel. Transfer gen horizontal dari human papilomavirus 18 (HPV 18) ke sel serviks manusia menghasilkan genom Hela yang berbeda dari genom induk dengan berbagai cara termasuk jumlah kromosomnya (Macville, et al., 1999).

Sel kanker serviks yang diinfeksi HPV diketahui mengekspresikan 2 onkogen, yaitu E6 dan E7. Protein E6 dan E7 dari HPV memodulasi protein seluler yang mengatur daur sel. Protein E6 berikatan dengan tumor supresor protein p53 dan

memprescepat degradasi p53 yang diperantai ubiquitin. Protein E6 juga menstimulasi aktivitas enzim telomerase. Sedangkan protein E7 dapat mengikat bentuk aktif terhipofosforilasi dari p105Rb dan anggota lain dari family Rb. Ikatan ini menyebabkan destabilisasi Rb dan pecahnya kompleks Rb/E2F yang berperan menekan transkripsi gen yang diperlukan untuk *cell cycle progression* (DeFillips, et al., 2003). Sebagian besar sel kanker serviks, termasuk sel HeLa, mempunyai gen p53 dan p105Rb dalam bentuk *wild type*. Jadi, gen pengatur pertumbuhan yang aktif dalam sel normal ini juga terdapat dalam sel kanker serviks. Namun, aktivitasnya dihambat oleh ekspresi protein E6 dan E7 dari HPV (Goodwin & DiMaio, 2000).

J. Sel Vero

Sel vero berasal dari ginjal monyet hijau Afrika (*Cercopithecus aethiops*) pada tahun 1960. Sel vero adalah salah satu sel mamalia yang paling umum digunakan untuk penelitian. Sel ini telah secara luas digunakan dalam studi virologi, studi bakteri intraseluler, dan parasit (misalnya Neospora). Kultur sel ini memiliki jumlah kromosom hypodiploid. Terdapat jumlah kromosom utama adalah 58 di 66% dari sel. Media dasar untuk kultur sel ini adalah ATCC-formulated Eagle's Minimum Essential, Katalog No. 30-2003. Untuk medium lengkap, ditambahkan FBS pada konsentrasi akhir 10% (ATCC.org)

K. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Dirjen POM, 1995).

Ekstraksi (penyarian) adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Harborne, 1987).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan atau biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel secara osmosis yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara dalam dan luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (Harborne, 1987).

L. MTT Assay

MTT Assay adalah teknik yang sering dipakai pada umumnya, teknik ini menggunakan garam tetrazolium atau MTT {3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) yang berwarna kuning dimana akan dimetabolisme oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terdapat pada mitokondria sel menjadi kristal formazan berwarna ungu (Freshney, 1992). Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (CCRC, 2010).

M. Kultur Sel

Kultur sel merupakan teknik yang biasa digunakan untuk perkembangbiakan sel yang berasal dari *cell line* di luar tubuh (In vitro). Sedangkan kultur jaringan merupakan kultur tiga dimensi dari jaringan utuh atau sama seperti halnya in vivo (Mahardika. 2004). Kultur sel ditempatkan dalam wadah khusus yang steril (Flask), kebutuhan akan O₂ 95% harus dijaga dan menginkubasinya pada inkubator sel yang

mengandung kadar CO₂ 5%. Umumnya *cell line* tumbuh pada pH 7,4 sehingga kestabilannya harus dijaga dengan menambahkan buffer ke dalam medium kultur. Sel turunan disimpan pada temperature -120 sampai -180 °C agar sel tersebut tidak berproliferasi (Mahardika, 2004).

Kultur sel adalah kultur sel-sel yang berasal dari organ atau jaringan yang telah diuraikan secara mekanis dan atau secara enzimatis menjadi suspensi sel. Suspensi sel tersebut kemudian dibiakkan menjadi satu lapisan jaringan (monolayer) di atas permukaan yang keras (botol, tabung dan cawan) atau menjadi suspensi sel dalam media penumbuh. Monolayer tersebut dapat diperbanyak lagi, disebut subkultur atau pasase. Apabila dipasase terus menerus maka dihasilkan sel lestari (*cell line*)

Sel lestari memiliki beberapa sifat yaitu: (Malole, 1990)

- a. Terjadi peningkatan jumlah sel
- b. Sel-sel tersebut memiliki daya tumbuh yang tinggi
- c. Sel-sel tersebut seragam
- d. Biasanya sel-sel tersebut mengalami perubahan fenotipe atau transformasi

Media untuk pertumbuhan sel kanker:

- a. MEM

MEM, juga disebut media DMEM adalah media kultur sel yang dikembangkan oleh Harry Eagle yang dapat digunakan untuk menjaga sel-sel dalam

kultur jaringan. Ini hanya berisi 12 jenis asam non-esensial amino, glutamin, 8 vitamin dan beberapa garam anorganik dasar.

b. DMEM

Sebuah variasi dari MEM, yang disebut sebagai *Dulbecco's modified media Eagle* (DMEM) mengandung sekitar empat kali lebih banyak dari vitamin dan asam amino hadir dalam MEM dan 2-4 kali lebih banyak glukosa. Selain itu, mengandung zat besi dan fenol merah. DMEM terbagi berdasarkan kadar glukosa yakni, jenis tinggi glukosa (4500g/L glukosa) dan jenis rendah glukosa (1000g/L glukosa). DMEM dengan glukosa tinggi cocok untuk beberapa sel tumor dengan kecepatan pertumbuhan yang lebih cepat dan sulit, karena itu bermanfaat untuk mempertahankan dan tumbuh di satu tempat.

c. IMDM

Medium ini dimodifikasi oleh Iscove dari media dasar DMEM mengandung 42 bahan, mengandung bahan tambahan termasuk selenium, asam amino dan vitamin. Selain itu, media yang unik ini tidak memiliki besi, namun kalium nitrat menggantikan nitrat besi. Hal ini juga cocok untuk berkembang biak menggantikan nitrat besi. Hal ini juga cocok untuk berkembang biak kultur sel kulit, kultur sel low density, termasuk seleksi sel hybrid setelah fusi sel, pemilihannya berdasarkan pada perubahan sel setelah transfeksi DNA.

d. RPMI1640

Roswell Park Memorial Institute Medium, sering disebut sebagai RPMI, adalah bentuk media yang digunakan dalam kultur sel dan kultur jaringan. Rumus awal cocok untuk pertumbuhan suspensi sel, terutama untuk sel-sel limfoid. Media ini mengandung banyak fosfat dan diformulasikan untuk digunakan dalam 5% atmosfer karbon dioksida. RPMI1640, yang paling matang ditingkat media untuk sebagian besar jenis sel, termasuk sel-sel tumor, sel-sel normal, sel kultur primer, sel bagian, RPMI1640 adalah salah satu media yang paling umum digunakan.

e. 199/109 media

199 media dikembangkan oleh Morgan dan rekan-rekan kerjanya pada tahun 1950 dan merupakan salah satu medium kultur yang paling awal. Pada awalnya dikembangkan sebagai formulasi media yang benar-benar ditetapkan untuk kultur sel embrio ayam. 199 media memiliki lebih dari 60 komponen dan mengandung hampir semua asam amino, vitamin, hormon pertumbuhan, turunan asam nukleat, dll 109 media adalah tingkat dasar berdasarkan 199 media dan lebih baik dirumuskan untuk kultur sel dalam lingkungan sel bebas serum.

f. HamF10/HamF12

Media HamF10 merupakan media klasik yang dirancang oleh Ham untuk mendukung pertumbuhan tikus dan sel-sel diploid manusia pada tahun 1962. HamF12, sebagai produk yang ditingkatkan telah digunakan untuk pertumbuhan

hepatosit tikus primer dan sel epitel prostat tikus. Sebuah uji toksisitas klonal menggunakan sel CHO juga telah dilaporkan dengan Ham F12 sebagai media pilihan. Ham F12 juga tersedia dengan 25 mM buffer HEPES yang menyediakan penyangga yang lebih efektif dalam kisaran pH optimum 7,2-7,4

g. McCoy's 5A

Pada tahun 1959, McCoy dan rekan-rekan kerjanya melaporkan kebutuhan asam amino untuk budidaya in vitro Novikoff sel Hepatoma. Studi ini dilakukan dengan menggunakan Basal Medium 5A, dan kemudian dimodifikasi untuk membuat media baru yang dikenal sebagai *McCoy's 5A medium*. Media ini telah digunakan untuk mendukung pertumbuhan budaya utama berasal yang dari kelenjar adrenal, sumsum tulang (normal), paru-paru, ginjal tikus, omentum, kulit, limpa dan jaringan lainnya. Ini adalah media untuk tujuan umum jalur sel dan mapan. Semua media ini sudah dikoersialkan dan satu media memiliki bentuk yang berbeda, seperti bubuk atau cair, paket besar atau kantong pack. Bentuk cair dibagi 10x larutan pekat, 2x terkonsentrasi solusi dan solusi kerja (Zhanqiu & Hai, 2012)

N. Indeks Selektifitas

Selektifitas sampel terhadap sel kanker dibandingkan dengan sel vero normal dinyatakan oleh indeks selektifitas (SI). Sampel apapun dengan nilai SI lebih besar dari tiga dianggap memiliki selektifitas tinggi (Natthida, et al., 2016)

Nilai SI menunjukkan selektifitas sampel terhadap sel uji. Selektifitas efek sitotoksik dapat dihitung dengan persamaan: (Wahyuningsih, et al., 2013)

$$SI = \frac{IC50 \text{ Sel Normal}}{IC50 \text{ Sel Kanker}}$$

O. Tinjauan islam

Islam memandang bahwa kesehatan merupakan nikmat dan karunia Allah SWT yang wajib disyukuri. Pembicaraan mengenai kesehatan tidak bisa dilepaskan dari pembicaraan mengenai penyakit. Penyakit merupakan suatu peristiwa kehidupan yang selalu menyertai perjalanan hidup manusia sejak Nabi Adam as. Namun, sungguh tidak ada yang dapat memberikan kesembuhan kecuali Allah SWT.

Allah SWT berfirman dalam QS. Asy-Syu'ara/26: 80

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Terjemahnya: dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku (Departemen Agama RI, 2009)

Firman-Nya: وَإِذَا مَرَضْتُ dan apabila aku sakit berbeda dengan redaksi

lainnya. Perbedaan pertama adalah penggunaan kata *idzal/apabila* dan mengandung makna besarnya kemungkinan atau bahkan kepastian terjadinya apa yang dibicarakan,

dalam hal ini adalah sakit. Ini mengisyaratkan bahwa sakit-berat atau ringan, fisik atau mental merupakan salah satu keniscayaan hidup manusia. Perbedaan kedua adalah redaksi yang menyatakan “Apabila aku sakit” bukan “Apabila Allah menjadikan aku sakit”. Namun demikian, dalam hal penyembuhan-seperti juga dalam pemberian hidayah, makan dan minum-secara tegas Nabi Ibrahim as menyatakan bahwa Yang melakukannya adalah Dia, Tuhan semesta alam itu (Shihab, 2002).

Dengan demikian, terlihat dengan jelas bahwa berbicara tentang nikmat, secara tegas, Nabi Ibrahim as. Menyatakan bahwa sumbernya adalah Allah SWT, berbeda dengan ketika berbicara tentang penyakit. Ini karena penganugerahan nikmat adalah sesuatu yang terpuji sehingga wajar disandarkan kepada Allah, sedang penyakit adalah sesuatu yang dapat dikatakan buruk sehingga tidak wajar dinyatakan bersumber dari Allah SWT. Demikian Nabi Ibrahim as. Mengajarkan bahwa segala yang terpuji dan indah bersumber dari-Nya. Adapun yang tercela dan negatif, hendaklah terlebih dahulu dicari penyebabnya pada diri sendiri (Shihab, 2002)

Menurut Aswadi Syuhada, dari UIN Sunan Ampel Surabaya, indikasi sakit, sembuh, dan sehat dalam Bahasa Al-Quran, secara berurutan dapat didasarkan pada kata *maradi*, *syifa*, dan *salim*. Kata *maradi* dan *syifa* secara berdampingan diungkapkan dalam surat As-Syuara ayat 80. Pada ayat tersebut tampak dengan jelas bahwa sakit (*marad*) terkait dengan manusia, sedangkan kesembuhan (*syifa*) merupakan sesuatu yang diberikan kepada manusia, dan bersandar kepada Allah

SWT. Kandungan makna ini mengantarkan kita pada sebuah pemahaman bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Apabila obatnya sesuai dengan penyakitnya, kesembuhan akan terjadi, dan atas izin dari Allah SWT (Muntaha, 2012)

Dalam ayat di atas, Allah SWT menegaskan kekuasaan-Nya dalam memelihara hamba-Nya. Hanya Dialah yang mahakuasa dalam menghilangkan kesulitan atau kemudharatan yang sedang dialami oleh hamba-Nya termasuk kemiskinan ataupun kesehatan yang terganggu. Untuk itu, kita harus senantiasa berikhtiar dalam mencari obat untuk penyakit yang ada dan meyakini bahwa hanya Allah yang mampu menyembuhkan.

Di dunia ini tidak ada manusia yang tidak pernah mengalami sakit, setiap manusia pasti pernah merasakannya. Ketika manusia sakit, ia harus senantiasa berikhtiar mencari pengobatan untuk kesembuhannya karena Allah SWT tidak akan menurunkan suatu penyakit tanpa ada obatnya, sebagaimana hadis yang diriwayatkan oleh Abu Hurairah ra dari Nabi saw bersabda : (Basyier, 2011)

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ
مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya :

Dari Abu Hurairah ra. Dari Nabi Saw bersabda : Allah tidak menurunkan penyakit, kecuali Dia juga yang menurunkan obatnya” (HR. Bukhari)

Dari hadist di atas, dapat juga diketahui bahwa yang memberikan penyakit adalah Allah SWT, namun manusia juga tak lepas dari penyebab sakit itu sendiri. Jika dikembalikan pada diri sendiri, salah satu penyebab manusia menjadi sakit yakni melalui kebiasaanya. Salah satu contohnya yakni sikap berlebih-lebihan. Sikap berlebih-lebihan pasti takkan lepas memberi dampak pada tubuh kita, khususnya jika berkaitan dengan makanan dan minuman. Berlebih-lebihan dalam makan dan minum akan membuat kerja sistem pencernaan makin berat, peredaran darah juga akan terganggu apabila tubuh terlalu banyak dimasuki makanan. Kadar gula darah menjadi tinggi, tekanan darah tinggi, kolestrol, hingga kanker adalah salah satu akibat dari berlebih-lebihan. Maka dapat disimpulkan bahwa, penyakit bisa muncul karena ulah dari manusia itu sendiri akan tetapi sakit sehatnya seseorang ditentukan atas kehendak dari Allah SWT sesuai dengan Hadist di atas.

Munculnya berbagai macam penyakit pada zaman modern ini yang salah satunya adalah kanker, telah menuntut manusia untuk terus mencari berbagai macam pengobatan. Salah satu metode pengobatan yakni menggunakan tumbuh-tumbuhan. Tumbuh-tumbuhan memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai obat untuk berbagai macam penyakit, sehingga kita sebagai makhluk ciptaan Allah SWT harus selalu berusaha dan mencari tahu manfaat kandungan dari apa yang diciptakan-Nya dimuka bumi ini termasuk kandungan dari tumbuh-tumbuhan

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

1. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian kuantitatif.

2. Lokasi penelitian

Lokasi Penelitian bertempat di Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Makassar dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

B. Pendekatan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental*. Desain penelitiannya adalah *Posttest only control group design*. Pada desain penelitian ini terdapat dua kelompok yang digunakan untuk penelitian, kelompok pertama diberi perlakuan disebut kelompok eksperimen sedangkan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol. Kedua kelompok tersebut dilakukan pengukuran atau dianalisis menggunakan data statistik (Siswanto, 2015)

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat maserasi, ELISA *plate reader*, inkubator CO₂ 5%, *laminar air flow* (LAF), mikroskop *inverted*, *microplate* 96-well, pompa vakum, *rotary evaporator*, *sinter glass*, *sentrifuge*, vortex

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain aquadest, etil asetat, n-heksan, metanol, Sel kanker HeLa, Sel kanker MCF-7, Sel Vero, medium DMEM komplet [foetal bovine serum (FBS) 10%, fungizon 0,5%, Hepes (*N*-2-hydroxyethylpiperazine-2-ethanesulfonic acid), natrium bikarbonat (NaHCO₃), MTT [(3-4,5-dimetiltiazol 2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromida)], PBS (*Phosphate Buffer Saline*), penisilin-sterptomisin 2%, *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS), dimetil sulfoksida (DMSO), trypsin EDTA 0,5%

D. Cara Kerja

1. Penyiapan sampel

a. Pengambilan sampel

Sampel daun botto-botto diambil dari daerah Samata Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan. Pengambilan daun dilakukan dengan memilih daun yang masih segar dan dilakukan pada waktu pagi hari pukul 08.00 WITA

b. Pengolahan sampel

Daun botto-botto yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah mengering, sampel kemudian dihaluskan hingga berbentuk serbuk.

2. Ekstraksi

Serbuk daun botto-botto ditimbang lalu dimasukkan ke dalam bejana maserasi (toples) dan selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak 17.5 Liter selama 3 x 24 jam. Simplisia yang telah dimaserasi lalu disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat dan ampas dipisahkan dalam wadah yang berbeda, ampas yang didapatkan dimaserasi kembali dengan menggunakan pelarut metanol, proses ini dilakukan hingga cairan penyari tidak dapat lagi menarik senyawa yang terdapat dalam sampel yang ditandai dengan jernihnya cairan penyari. Sedangkan filtrat yang telah didapatkan, dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* kemudian diangin-anginkan hingga kering.

3. Partisi Padat Cair

Ekstrak kental metanol sebanyak 24,54 gr dimasukkan ke dalam lumpang. Pelarut n-heksan ditambahkan sebanyak 4 liter secara sedikit demi sedikit ke dalam lumpang kemudian digerus. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung *sentrifuge* dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 7 menit. Ekstrak yang telah disentrifugasi akan menghasilkan pemisahan antara ekstrak larut n-heksan dan

ekstrak tidak larut n-heksan. *Sentrifuge* dilakukan sampai ekstrak larut n-heksan berwarna bening mendekati semula. Ekstrak yang larut n-heksan kemudian ditampung pada mangkuk. Ekstrak yang tidak larut n-heksan digerus kembali dengan penambahan etil asetat sebanyak 2 liter secara sedikit demi sedikit dan disentrifugasi kembali sehingga akan menghasilkan ekstrak yang larut etil asetat dan tidak larut etil asetat.

4. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode KCV (Kromatografi Cair Vakum). Sampel hasil partisi (partisi larut etil asetat) ditimbang kemudian dibuat bubur silika dengan cara mencampur sedikit demi sedikit ekstrak dengan silika gel GF 254. Bubur silika yang telah tercampur rata dimampatkan lalu dielusi dengan menggunakan eluen yang telah dibuat berdasarkan identifikasi KLT sebanyak 462 ml n-heksan, 1.091 liter etil asetat, dan 206.6 ml metanol. Selanjutnya hasil fraksi ditampung ke dalam mangkuk.

5. Penentuan Golongan Senyawa Ekstrak dan Fraksi Aktif

a. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 5 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat yang didapat lalu ditambah bubuk Mg secukupnya, 1 ml asam sulfat pekat dan 2 mL etanol. Dikocok kuat dan biarkan terpisah. Terbentuknya

warna merah, kuning atau jingga pada lapisan etanol menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Tiwari, et al., 2011)

b. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak sebanyak 5 mg digerus dengan penambahan kloroform hingga larut. Ditambahkan 0,5 mL asam sulfat 1 M, kemudian dikocok perlahan. Didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas yang jernih dibagi dua, 1 bagian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff dan bagian berikutnya ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Mayer. Endapan merah bata yang terbentuk oleh pereaksi Dragendorff dan endapan putih oleh pereaksi Meyer menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Fransworth, 1996)

c. Identifikasi triterpenoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam kloroform dan disaring. Kemudian filtrat ditambahkan beberapa tetes asam sulfat dan dikocok. Terbentuknya warna kuning emas mengindikasikan adanya senyawa triterpen (Tiwari, et al., 2011)

d. Identifikasi fenolik

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan 2 mL etanol 96% dan ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 . Terbentuknya warna hitam kebiruan mengindikasikan adanya senyawa fenol (Tiwari, et al., 2011)

6. Uji Sitotoksitas Sel Kanker Hela, Sel Kanker MCF-7 dan Sel Vero

1. Pembuatan Media

a. Pembuatan media cair

Disiapkan media padat dan 950 ml aquabides steril dalam gelas beker 1000 ml dalam LAF. Media bubuk dituang ke dalam gelas beker yang telah berisi aquabides steril lalu diaduk hingga rata. Ditambahkan 2,2 g NaHCO_3 untuk setiap liter media yang dibuat, diaduk hingga rata. Kemudian dicukupkan dengan aquabides steril hingga volume 1000 ml. Diaduk dengan menggunakan magnetik stirer hingga semua media padat dan NaHCO_3 dapat larut. Dilakukan *adjust* pH dengan menambahkan NaOH 1 N atau HCl 1 N kemudian difiltrasi media dengan filter 0,2 mikron, ditampung ke dalam botol duran 1000 ml. Diberi penandaan dan disimpan media di kulkas dengan suhu 4°C

b. Pembuatan Media Kultur Lengkap

Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan (FBS, penisilin dan streptomisin yang telah dicairkan). Disiapkan botol duran volume 100 ml. Diambil 10 ml FBS, lalu dituang ke dalam botol duran. Ditambahkan 1 ml penisilin-streptomisin kemudian dicukupkan sampai 100 ml media cair. Setelah selesai diberi penanda pada botol duran.

2. Panen Sel

Sel yang berada pada inkubator diambil dan diamati. Kemudian dibuang media dengan menggunakan mikropipet. Sel dicuci sebanyak dua kali dengan menggunakan PBS. Ditambahkan tripsin-EDTA secara merata dan inkubasi sel selama 3 menit. Setelah 3 menit, tambahkan media ± 5 ml dan amati di bawah mikroskop.

3. Pengenceran

Setelah itu ditambahkan larutan uji setiap fraksi dengan konsentrasi 500 ppm, masing-masing sebanyak 100 μ l. Selanjutnya media komplet DMEM sebanyak 100 μ l ditambahkan pada 3 sumuran yang lain sebagai kontrol sel dan 3 sumuran dibiarkan kosong sebagai blangko lalu diinkubasi pada 37 °C dalam inkubator CO₂ 5% selama 24 jam.

4. Uji MTT

Pada masing-masing sumuran, ditambahkan 100 μ L larutan MTT. Sel diinkubasi kembali selama 4 jam dalam inkubator CO₂ 5% 37 °C. Reaksi MTT dihentikan dengan menambahkan SDS 100 μ L, diinkubasi dalam ruang gelap selama semalam. Serapan dibaca dengan *microplate ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm. Setelah dibaca absorbansi kemudian dihitung persentase sel hidup dan sel matinya.

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{(\text{kontrol sel sehat} - \text{Kontrol blank}) - (\text{Sel treatment} - \text{Blank})}{(\text{Kontrol sel sehat} - \text{Kontrol Blank})}$$

$$\% \text{ Sel Mati} = \frac{(\text{Sel treatment} - \text{Blank})}{(\text{Kontrol sel sehat} - \text{Kontrol Blank})}$$

5. Perhitungan Selektifitas

Selektifitas ditentukan dengan menggunakan parameter SI (*Selectivity Index*)

dengan rumus:

$$SI = \frac{\% \text{ penghambatan pada sel kanker}}{\% \text{ penghambatan pada sel vero}}$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Ekstraksi Sampel

Ekstrak metanol daun botto-botto = 275,42 gram

% Rendamen = $\frac{275,42 \text{ gram}}{5000 \text{ gram}} \times 100\% = 5,49\%$

2. Hasil Partisi

Tabel 3. Hasil Partisi Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata*)

Sampel	Hasil Partisi	Berat Hasil Partisi (g)
Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto 24 gr	N-heksan	0.34
	Etil Asetat	3.95
	Tidak Larut Etil Asetat	0.11

3. Hasil Fraksinasi

Tabel 4. Hasil Fraksinasi Partisi Larut Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata*)

No	Fraksi	Berat (g)
1	A	0.09
2	B	0.82
3	C	0.76
4	D	0.25
5	E	0.12
6	F	0.20
7	G	0.42

4. Hasil Identifikasi Senyawa

Tabel 5. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa

No	Sampel	Alkaloid			Steroid (LB)	Flavonoid (AlCl ₃)	Fenol (FeCl ₃)
		Dragendorf	Mayer	Wagner			
1	Ekstrak	+	+	+	+	+	+
2	Partisi Larut N-heksan	+	-	+	-	-	-
3	Partisi Larut Etil Asetat	+	-	-	+	+	+
4	Partisi Tidak Larut Etil Asetat	-	-	-	-	+	-
5	Fraksi 1	+	+	-	-	-	+
6	Fraksi 2	+	+	-	+	-	+
7	Fraksi 3	+	+	-	-	-	+
8	Fraksi 4	+	+	-	-	+	+
9	Fraksi 5	+	-	-	-	+	+
10	Fraksi 6	+	-	-	-	+	+
11	Fraksi 7	-	-	-	-	-	+

Keterangan :

(+) = Mengandung senyawa

(-) = Tidak Mengandung senyawa

5. Uji Sitotoksitas dan Selektifitas

Tabel 6. Hasil Uji Sitotoksitas dan Selektifitas

a. Tabel Hasil Uji Sitotoksitas Sel Kanker MCF-7

No	Sampel	Absorbansi	% Sel Mati
1	Ekstrak	0.344 ± 0.015	43.628
2	Partisi Larut N-heksan	0.329 ± 0.023	40.661
3	Partisi Larut Etil Asetat	0.497 ± 0.032	74.916
4	Partisi Tidak Larut Etil Asetat	0.814 ± 0.050	138.705
5	Fraksi 1	0.444 ± 0.267	63.924
6	Fraksi 2	0.261 ± 0.016	26.905
7	Fraksi 3	0.558 ± 0.083	86.851
8	Fraksi 4	0.334 ± 0.037	41.672
9	Fraksi 5	0.317 ± 0.031	37.896
10	Fraksi 6	0.239 ± 0.009	22.522
11	Fraksi 7	0.323 ± 0.007	39.380
12	Kontrol Positif (Doxorubisin)	0.417 ± 0.024	58.395

b. Tabel Hasil Uji Sitotoksitas Sel Kanker HeLa

No	Sampel	Absorbansi	% Sel Mati
1	Ekstrak	0.276 ± 0.045	29.124
2	Partisi Larut N-heksan	0.230 ± 0.007	19.124
3	Partisi Larut Etil Asetat	0.455 ± 0.049	68.304
4	Partisi Tidak Larut Etil Asetat	0.651 ± 0.007	111.313
5	Fraksi 1	0.341 ± 0.408	43.358
6	Fraksi 2	0.247 ± 0.034	22.774
7	Fraksi 3	0.486 ± 0.083	75.109
8	Fraksi 4	0.299 ± 0.022	34.307
9	Fraksi 5	0.321 ± 0.028	38.978
10	Fraksi 6	0.228 ± 0.014	18.759
11	Fraksi 7	0.484 ± 0.008	74.818
12	Kontrol Positif (Cisplatin)	0.386 ± 0.022	53.212

c. Tabel Hasil Uji Sitotoksitas Sel Vero

No	Sampel	Absorbansi	% Sel Mati
1	Ekstrak	0.246 ± 0.013	12.536
2	Partisi Larut N-heksan	0.220 ± 0.004	9.738
3	Partisi Larut Etil Asetat	0.388 ± 0.046	28.016
4	Partisi Tidak Larut Etil Asetat	1.090 ± 0.074	104.542
5	Fraksi 1	0.602 ± 0.126	51.272
6	Fraksi 2	0.193 ± 0.011	6.722
7	Fraksi 3	0.475 ± 0.026	37.464
8	Fraksi 4	0.340 ± 0.028	24.747
9	Fraksi 5	0.351 ± 0.080	23.983
10	Fraksi 6	0.265 ± 0.030	14.608
11	Fraksi 7	0.659 ± 0.021	57.558
12	Kontrol Positif (Doxorubisin)	0.564 ± 0.009	47.129

d. Tabel Selektifitas

No	Sampel	Selektifitas Terhadap Sel Kanker HeLa	Selektifitas Terhadap Sel Kanker MCF-7
1	Ekstrak	2.323	3.48
2	Partisi Larut N-heksan	1.963	4.185
3	Partisi Larut Etil Asetat	2.441	2.674
4	Partisi Tidak Larut Etil Asetat	1.064	1.337
5	Fraksi 1	0.845	1.247
6	Fraksi 2	3.387	4.002
7	Fraksi 3	2.004	2.318
8	Fraksi 4	1.508	1.831
9	Fraksi 5	1.625	1.58
10	Fraksi 6	1.284	1.541
11	Fraksi 7	1.299	0.684
12	Kontrol Positif	1.129	1.239

B. Pembahasan

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi di dunia. Di Indonesia sendiri penyakit kanker payudara dan kanker serviks menempati urutan pertama dan kedua penyakit yang paling banyak dialami oleh wanita Indonesia.

Kegagalan yang terjadi pada terapi kanker disebabkan karena efek samping yang dimiliki oleh obat-obat terapi kanker. Obat yang bersifat selektif diharapkan hanya mampu membunuh sel-sel kanker tanpa membunuh sel normal. Terapi kanker yang pada awalnya bertujuan untuk membunuh sel kanker juga akan menyerang sel normal. Sel normal umumnya akan lebih resisten terhadap kemoterapi karena biasanya ia akan berhenti membelah jika kondisi lingkungannya tidak memungkinkannya untuk berkembang. Tapi, ada beberapa sel normal yang membelah dengan cepat sehingga kemoterapi akan mempengaruhi sel normal tersebut. Sel normal yang membelah dengan cepat tersebut antara lain sumsum tulang, sel mukosa gastrointestinal, sel mukosa bukal, dan sel rambut. Kematian sel normal inilah yang akan menyebabkan beberapa efek samping seperti alopesia, mual, muntah dan gangguan pencernaan (Radji, 2015).

Manfaat tumbuhan *Chromolaena odorata* sebagai antikanker telah terbukti dalam beberapa penelitian, akan tetapi selektifitasnya terhadap sel normal belum pernah diteliti sebelumnya. Sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai selektifitas tumbuhan *Chromolaena odorata* terhadap sel normal.

Suatu senyawa dapat dikatakan selektif jika ia tidak mengganggu keadaan sel normal, sehingga digunakan sel normal Vero untuk membandingkan dan mengetahui apakah senyawa yang telah didapatkan tersebut mengganggu keadaan sel normal atau tidak.

Pembuatan simplisia dilakukan dengan pengambilan sampel dari daun kelima hingga pucuk kemudian dilakukan pengeringan. Setelah mengering, sampel kemudian dihaluskan hingga berbentuk serbuk simplisia. Ukuran simplisia mempengaruhi jumlah senyawa yang akan ditarik oleh pelarut. Semakin kecil ukuran simplisia, maka luas permukaannya akan semakin besar dan pelarut dapat menarik senyawa-senyawa kimia semakin banyak (Puzi, et al., 2015)

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Pemilihan metode ini didasarkan pada kesederhanaan metode yang digunakan dan kemudahan alat untuk didapatkan. Selain itu, maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga rusaknya senyawa-senyawa yang tidak tahan panas dapat dihindari. Pelarut yang digunakan adalah metanol. Pemilihan metanol yaitu karena mempunyai kepolaran yang tinggi sehingga dapat melarutkan senyawa polar, semipolar, maupun nonpolar dalam sampel. Selain itu, jika dibandingkan dengan pelarut air metanol lebih unggul karena tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri (Maro, et al., 2015). Setelah didapatkan ekstrak cair dari sampel maka ekstrak kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60 °C.

Pemekatan menggunakan *rotary evaporator* ini bertujuan untuk menguapkan pelarut yang ada pada ekstrak cair sehingga hasil yang didapatkan adalah ekstrak kental dari daun *Chromolaena odorata*.

Ekstrak metanol dari daun *Chromolaena odorata* yang telah diperoleh kemudian dipartisi. Partisi dilakukan karena di dalam ekstrak masih terdiri dari senyawa polar, semi polar, dan nonpolar sehingga untuk mendapatkan ekstrak dengan perbedaan kepolaran yang berbeda dilakukan partisi padat-cair. Pemilihan metode partisi ini didasari karena partisi padat cair lebih mudah dibandingkan dengan partisi cair-cair. Pada tahap partisi diperoleh tiga hasil partisi yakni partisi larut n-heksan 0.3394 g, partisi larut etil asetat 3.9511 g dan partisi tidak larut etil asetat 0.10455 g. Pemisahan ekstrak ini didasarkan atas perbedaan konstanta dielektrik. Adapun konstanta dielektrik masing-masing pelarut yakni n-heksan 2.0 dan etil asetat 6.0. Semakin besar konstanta dielektrik suatu senyawa maka kepolarannya akan semakin tinggi. Pelarut polar akan menarik senyawa polar, semi polar, dan non polar. Pelarut semipolar akan menarik senyawa semipolar hingga nonpolar. Sedangkan senyawa nonpolar akan tertarik pada pelarut nonpolar. (Firdiyani, et al., 2015). Dari hasil partisi, diketahui bahwa dalam ekstrak daun *Chromolaena odorata* mengandung lebih banyak senyawa semipolar karena partisi larut etil memiliki berat yang lebih besar dibandingkan dengan partisi larut n-heksan dan tidak larut etil asetat. Hal ini

kemungkinan terjadi karena senyawa yang tertarik bersifat semi polar sehingga ia akan tertarik pada pelarut etil asetat.

Partisi larut etil asetat kemudian difraksinasi kembali menggunakan metode KCV (Kromatografi Cair Vakum) untuk mendapatkan pemisahan senyawa yang lebih kompleks. Fraksinasi diawali terlebih dahulu dengan identifikasi KLT. Identifikasi KLT dilakukan untuk menentukan eluen terbaik pada proses KCV. Adapun campuran eluen yang digunakan dalam identifikasi KLT ini adalah n-heksan:etil asetat dengan perbandingan 1:5, 3:5, 1:1, 1: 10, dan 1:2. Dari hasil identifikasi ini, diperoleh eluen yang dapat memisahkan noda dengan baik adalah eluen n-heksan:etil asetat dengan perbandingan 1:2. Setelah diperoleh perbandingan eluen yang sesuai, maka dibuat kembali perbandingan eluen yang akan digunakan untuk proses kromatografi cair vakum. Perbandingan eluen yang dibuat yaitu n-heksan : etil asetat 6:1, 4:1, 2:1, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, etil asetat, etil asetat: metanol 10:1, 8:1, 6:1, 4:1, 2:1 dan metanol. Perbandingan eluen ini menghasilkan tujuh fraksi. Mekanisme pemisahan pada proses KCV yakni adsorpsi dan partisi. Adsorpsi terjadi karena adanya kemampuan zat terlarut berinteraksi dengan fase diam silika yang bersifat polar. Zat-zat yang bersifat polar akan lebih tertahan pada fase diam karena adanya interaksi antara zat-zat polar tersebut dengan silika. Sedangkan pada mekanisme secara partisi, pemisahan terjadi berdasarkan prinsip *like dissolve like*. Elusi pada kromatografi cair vakum dimulai dari fase gerak yang relatif nonpolar ke fase gerak yang polar

sehingga senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang paling rendah akan terelusi terlebih dahulu oleh fase gerak awal. Senyawa dengan kepolaran lebih tinggi akan tertahan pada fase diam dan dengan meningkatnya kepolaran fase gerak, senyawa yang lebih polar akan terelusi dan seterusnya hingga senyawa yang paling polar akan terelusi paling akhir sehingga menghasilkan pemisahan yang cukup efektif. Kelebihan dari metode KCV yaitu proses pemisahan dapat berlangsung dalam waktu yang relatif singkat karena adanya penggunaan vakum (Afiyanti & Murrukmiyadi, 2013). Hasil Fraksi yang telah didapatkan kemudian diuji identifikasi senyawa.

Dari hasil identifikasi senyawa, partisi larut n-heksan positif mengandung senyawa alkaloid. Partisi larut etil asetat positif mengandung senyawa alkaloid, steroid, flavonoid dan fenol. Partisi tidak larut etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid. Fraksi satu positif mengandung alkaloid dan fenol. Fraksi dua positif mengandung senyawa alkaloid, steroid, dan fenol. Fraksi tiga positif mengandung senyawa alkaloid dan fenol. Fraksi empat positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan fenol. Fraksi lima positif mengandung senyawa flavonoid, dan fenol. Fraksi enam positif mengandung senyawa flavonoid, dan fenol. Sedangkan pada fraksi tujuh mengandung senyawa fenol. Pada identifikasi senyawa alkaloid, digunakan tiga macam pereaksi yakni pereaksi dragendorff, mayer dan pereaksi wagner. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak digunakan untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini memberikan endapan dengan hampir semua

alkaloid. Pereaksi lain seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam tanat 5%, pereaksi dragendorf (kalium tetraiodobismutat) sering pula dipakai. Pereaksi dragendorf biasanya bereaksi dengan beberapa nonalkaloid meskipun kepekaan terhadap alkaloid sekitar sepuluh kalinya (Robinson, 1995). Adanya kandungan alkaloid ditunjukkan jika sekurang-kurangnya terbentuk endapan dengan menggunakan dua golongan larutan percobaan yang digunakan (Departemen Kesehatan RI, 1989)

Uji sitotoksik menggunakan metode MTT. Dalam hal ini metode MTT digunakan karena metode ini mudah, cepat, akurat, tidak menggunakan bahan-bahan yang radioaktif, serta dapat menghitung sel dalam jumlah yang sedikit. Uji ini dilakukan terhadap tiga macam sel yakni sel kanker HeLa, sel kanker MCF7, dan sel normal Vero. Ketiga sel ini adalah sel kultur (*Continuous cell*) yang masing-masing diambil dari jaringan yang telah diuraikan secara mekanis dan atau secara enzimatis menjadi suspensi sel. Kultur sel sering dipakai dalam penelitian karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan dalam replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta dapat dengan mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi. Hal-hal yang perlu diperhatikan saat sedang kultur sel yakni media pertumbuhan dan kondisi lingkungannya. Sel memerlukan pH 7,4 untuk pertumbuhannya dimana keseimbangan pH diatur menggunakan NaHCO_3 dan suhu dipertahankan 37 C dengan konsentrasi CO_2 5% (CCRC, 2010).

Tahap pertama yang dilakukan pada uji sitotoksitas ini adalah pembuatan media. Media digunakan sebagai tempat berkembangnya sel. Media kultur lengkap dalam pengujian ini terdiri dari beberapa komponen yakni DMEM, NaHCO_3 , FBS (Fetal Bovine Serum), penisilin-streptomisin dan juga fungizon. DMEM mengandung beberapa larutan garam isotonis, asam amino, vitamin, dan glukosa yang penting untuk pertumbuhan sel. NaHCO_3 yang terdapat dalam media berfungsi sebagai buffer. FBS (*Fetal Bovine Serum*) mengandung serum yang berfungsi sebagai stimulan untuk pembelahan sel. Penggunaan antibiotik penisilin dan streptomisin untuk membantu pencegahan kontaminasi oleh bakteri dan kontaminasi oleh jamur dapat dicegah dengan menggunakan fungizon (CCRC, 2010)

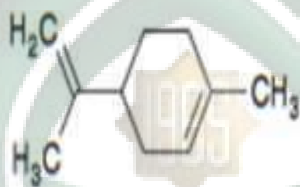
Setelah pembuatan media, dilakukan panen sel menggunakan PBS dan tripsin EDTA 0.25%. PBS (*Phosphate Buffer Saline*) berfungsi sebagai larutan pencuci untuk menghilangkan sisa serum yang masih menempel pada sel. Tripsin EDTA berfungsi untuk memisahkan sel yang masih menempel pada cawan petri. Sampel yang akan diujikan harus larut dalam media kultur. Kelarutan sampel ini dibantu oleh *cosolvent* seperti DMSO. Setelah penambahan larutan sampel uji kedalam sel dilakukan inkubasi untuk mendapatkan pertumbuhan sel yang optimum. Penambahan reagen MTT akan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Penambahan reagen *stopper* (SDS) akan melarutkan kristal berwarna ini sehingga dapat diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader.

Berdasarkan uji sitotoksitas, dapat dilihat bahwa pada sel kanker MCF7, fraksi yang paling banyak memberikan persentase sel hidup adalah fraksi dua dengan persentase sel hidup adalah 73.09 dan persentase sel matinya adalah 26.09. Untuk sel kanker HeLa, fraksi yang paling banyak memberikan persentase sel hidup adalah fraksi enam dengan persentase sel hidup adalah 81.24 dan persentase sel matinya adalah 18.76. Sedangkan untuk sel normal vero, fraksi yang paling banyak memberikan persentase sel hidup adalah fraksi dua dengan persentase sel hidup adalah 93.27 dan persentase sel matinya adalah 6.72.

Dari hasil pengamatan selektifitas yang dapat dilihat pada **Tabel 4.d** menghasilkan fraksi dua yang paling selektif dibandingkan fraksi-fraksi lainnya dengan nilai selektifitas yakni 3.387 untuk sel kanker Hela dan nilai selektifitas 4.002 terhadap sel kanker MCF7. Hasil identifikasi senyawa kimia menunjukkan bahwa fraksi dua mengandung senyawa alkaloid, terpenoid dan fenol. Sedangkan untuk partisi, yang paling selektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker MCF7 adalah partisi larut n-heksan dengan nilai selektifitas yakni 4.185 dan positif mengandung senyawa alkaloid.

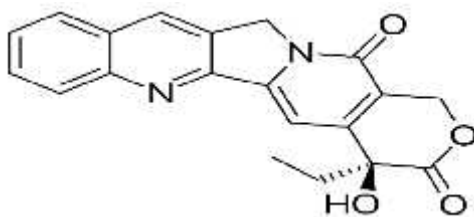
Menurut (Joshi, 2013), *Chromolaena odorata* mengandung senyawa α -pinene, β -pinene, germacrene, cadinene, camphor, limonene, dan candinol isomer. Limonene adalah salah satu senyawa golongan Monoterpenoid. Limonene adalah monosiklik monoterpene, kelas turunan terpenoid. Limonene memiliki aktivitas untuk melawan

berbagai macam sel kanker, caranya yakni dengan menghambat pertumbuhan tumor dan metastatik, melalui peningkatan ekspresi Bax, pelepasan sitokrom c dari mitokondria, dan pembelahan caspase 3, 9 tapi tidak caspase 8. Secara khusus, kombinasi agen Limonene dan Fluorouracil (5-FU) lebih efektif dibandingkan penggunaan secara tunggal (Lu & Huang, 2012)



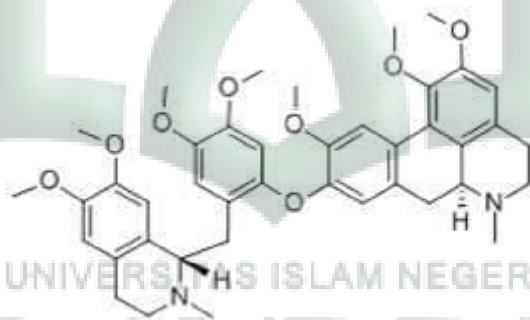
Gambar 4. Rumus Struktur Limonene

Menurut (Ikowuohi, et al., 2013) *Chromolaena odorata* memiliki berbagai macam senyawa alkaloid antara lain : Choline, Caphtechin, Chinconine, Echitamidine, Colchicine, Tetradhine, dan Thaklicarpin. Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker adalah Camptothecin dan Thallicarpin. Mekanisme kerja dari Camptothecin yakni melibatkan pengikatan kompleks kovalen topoisomerase I-DNA, menghasilkan pembentukan kompleks terner yang stabil dan mencegah relokasi DNA selama replikasi. Efeknya menyebabkan kerusakan pada DNA dan apoptosis sel kanker (Isah, 2016)



Gambar 5. Rumus Struktur Champtothecin

Thalictarpin terkenal karena berbagai mekanisme aksi yang beragam yang dikaitkan dengan aktivitas kemoterapi. Mekanisme kerja melibatkan pengikatan Fan penghambatan pompa efflux resistansi obat (p-glikoprotein), serta pemecahan untai tunggal pada DNA dengan penangkapan sel kanker pada fase G2 / M atau G1 dari siklus sel (Isah, 2016)



Gambar 6. Rumus Struktur Thalictarpin

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa partisi yang paling selektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker MCF-7 adalah partisi larut n-heksan dengan nilai selektifitas 4.185 dan untuk sel kanker HeLa partisi yang paling selektif yakni partisi larut etil asetat dengan nilai selektifitas 2.441. Adapun fraksi yang paling selektif dalam menghambat sel kanker HeLa dan sel kanker MCF7 adalah fraksi dua dengan nilai selektifitas 3.387 untuk sel HeLa dan 4.002 untuk sel MCF-7.

B. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan untuk melakukan pengujian lanjutan tentang aktivitas dari fraksi aktif *Chromolaena odorata*.

Kepustakaan

- Adedapo, A. A., Oyagbemi, A. A. & Yakubu, M. A., 2016. *Evaluation of Anticancer Properties of The Methanol Leaf Extract of Chromolaena odorata on Ht-29 Cell Line*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 5(2), pp. 52-57.
- Afiyanti, A. & Murrukmiyadi, M., 2013. *Efek Pemberian Fraksi Yang Mengandung Alkaloid Dari Bunga Kembang Sepatu (Hibiscus rosa-sinensis L) Varietas Merah Tunduk Terhadap Aktivitas Mukolitik Secara In Vitro*. Traditional Medicine Journal, September, 18(3), pp. 187-194.
- Algaba, J. R. et al., 2015. *Activity-Guided Separation of Chromolaena odorata Leaf Extract Reveals Fractions With Rice Disease-Reducing Properties*. Eur J Plant Pathol, 26 May.
- Ariani, S., 2015. *Stop Kanker*. Yogyakarta: Istana Media.
- Badisa, R. B., Darling-Reed, S. F., Joseph, P. & Cooperwood, J. S., 2009. *Selective Cytotoxic Activities of Two Novel Synthetic Drugs on Human Breast Carcinoma MCF-7 Cells*. Anticancer Res, August, 29(8), pp. 2993-2996.
- Basyier, A. U., 2011. *Kedokteran Nabi*. Surabaya: Shafa Publika.
- Bi-Koffi, P. v., Jacques, C. & Bedi, G., 2012. *Phytochemicals Isolated from Leaves of Chromolaena odorata: Impact on Viability and Clonogenicity of Cancer Cell Lines*. Phytotherapy Research, March.
- CCRC, 2010. *Prosedur Tetap. Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: CCRC Fakultas Farmasi UGM.
- Davis, J. M., Navolanic, P. M. & Weinstein, C. R., 2003. *Raf-1 and Bcl-2 Induce Distinct and Common Pathways That Contribute to Breast Cancer Drug Resistance*. Clinical Cancer Research, March, Volume 9, pp. 1161-1170.
- DeFillips, R. A., Goodwin, e. C., Wu, L. & Maio, D. D., 2003. *Endogenous Human Papilomavirus E6 dan E7 Proteins Differentially Regulate Proliferation, Senescence, and Apoptosis in Hela Cervical Carcinoma Cells*. Journal Of Virology, January, 77(2), pp. 1551-1563.
- Departemen Agama RI, 2009. *Al-Qur'an Tajwid & Terjemah*. Surakarta: Ziyad Visi Media.

Departemen Kesehatan RI, 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Dirjen Pengawasan Obat & Makanan RI.

Depkes RI, 2013. *Panduan Penatalaksanaan Kanker Payudara*. Indonesia: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Depkes RI, 2013. *Panduan Penatalaksanaan Kanker Serviks*. Indonesia: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Depkes RI, 2013. *Riset Kesehatan Dasar Riskesdas 2013*. Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.

Dirjen POM, 1995. *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Firdiyani, F., Agustini, T. W. & Ma'ruf, W. F., 2015. *Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami Spirullina platensis Segar Dengan Pelarut Yang Berbeda*. JPHPI, 18(1), pp. 28-37.

Fransworth, 1996. *Biological and Phytochemical Screening of Plants*. -: J. Pharm Sci.

Freshney, R., 1992. *Animal Cell Culture. Practical Approach Second Edition*. New York: Oxford University Press.

Goodwin, E. C. & DiMaio, d., 2000. *Repression of Human Pappilomavirus Oncogenes Hela Cervical Carcinoma Cells Causes The Orderly Reactivation Of Dormant Tumor Suppressor Pathways*. PNAS, November, 97(23), pp. 12513-12518.

Harborne, J. B., 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB Press.

Harun, F., Tilwari, A. & Othman, Z., 2012. *Autophagic Cell Death is Induced by Acetone and Ethyl Acetate Extract from Eupatorium odoratum in Vitro: Effects on MCF-7 and Vero Cell Lines*. The Scientific World Journal, Desember.

Hung, T. M. et al., 2011. *Flavonoid Glycosides from Chromolaena odorata Leaves and Their In Vitro Cytotoxic Activity*. Chem Pharm Bull, January, 59(1), pp. 129-131.

Ikowuohi, J. C., Ikowuohi, C. C. & Ifaanaoho, M. O., 2013. *Analysis of The Phytochemicals Composition of The Leaves of Chromolaena odorata King and*

Robinson by Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. The Pacific Journal of Science and Technology, 14(2), pp. 250-279.

Isah, T., 2016. *Anticancer Alkaloids From Trees: Development into Drugs*. July-December, 10(20), pp. 90-99.

Joshi, R. K., 2013. *Chemical Composition of The Essential oil of Chromolaena odorata (L.) R.M. King & H. Rob. Roots From India*. Journal Of Chemistry, pp. 1-4.

Julian, R., 2015. *Activity-Guided Separation of Chromolaena odorata Leaf Extract Reveals Fractions With Rice Disease-Reducing Properties*. Eur J Plant Pathol, May.

Kouame, P. B.-K. et al., 2012. *Phytochemicals isolated From Leaves of Chromolaena odorata: Impact on Viability and Clonogenicity of Cancer Cell Lines*. Phytotherapy Research.

Lambert, W. & Lecture, P. D. A., 2000. *Mechanisms of Apoptosis*. American Journal of Pathology, 157(5), pp. 1415-1430.

Lu, J.-J. & Huang, M.-Q., 2012. *Terpenoids: Natural Products For Cancer Therapy*. Informa UK.

Macdonald, F., Ford, C. & Casson, A., 2005. *Molecular Biology of Cancer*. 2nd ed. New York: Garland Science.

Macville, M., Schrock, E., Keck, C. & Popescu, N., 1999. *Comprehensive and Definitive Molecular Cytogenic Characterization HeLa Cells by Spectral Karyotyping*. Cancer Research, January, Volume 59, pp. 141-150.

Mahardika, A. W., 2004. *Kursus Singkat Kultur Sel*. Yogyakarta: Laboratorium Ilmu Hayati UGM.

Malole, M. B. M., 1990. *Kultur Sel dan Jaringan Hewan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi: Institut Pertanian Bogor.

Maro, J., Alimuddin, A. H. & Harlia, 2015. *Aktivitas Antioksidan Hasil Kromatografi Vakum Cair Fraksi Metanol Kulit Batang Ceria (Baccaurea hookeri)*. JKK, 4(4), pp. 35-40.

Muntaha, I., 2012. *Sehat Para Al-Quran*. Jakarta: Al-Magfiroh.

Natthida, W., Junhom, C. & Banusrux, S., 2016. *Induction of Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma Cells by Extracts of Lannea Coromandelica (Houtt) Merr. and Diospyros castanea (Craib) Fletcher*. Chinese Medicine, 11(19), pp. 1-10.

NBCF, 2016. *National Breast Cancer Foundation, Inc.* [Online] . Available at: <http://www.nationalbreastcancer.org>. [Accessed 21 April 2017].

NCCC, 2016. *National Cervical Cancer Coalition*. [Online] . Available at: <http://www.nccc-online.org>. [Accessed 21 April 2017].

NCI, n.d. *NIH*. [Online] . Available at: <https://www.cancer.gov/>. [Accessed 14 04 2017].

Neal, M. J., 2005. *Farmakologi Medical At A Glance*. Jakarta: Erlangga.

Nugraherni, M., Santoso, U., Suparmo & Wuryastuti, H., 2013. *Potensi Kentang Hitam dalam Mereduksi Stress Oksidatif dan Menghambat Proliferasi Sel Kanker Payudara MCF7*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, Volume 24, p. 139.

Nurwijaya, H., 2010. *Cegah dan Deteksi Kanker Serviks*. Surabaya: PT. Elex Media Komputindo.

Patridge, A. & Burstein, H., 2001. *Side Effect Of Chemotherapy and Combined Chemohormonal Therapy in Women with Early Stage Breast Cancer*. Journal of the National Cancer Institute Monograph, Volume 20, pp. 135-142.

Prabhu, V. & Ravi, S., 2012. *Isolation of a novel teriterpen from Essential Oil of Fresh Leaves of Chromolaena odorata and Its In-Vitro Cytotoxic Activity Against Hep G2 Cancer Cell Lines*. Journal of Applied Pharmaceutical Science, September, 2(9), pp. 132-136.

Prawiradiputa, b. R., 2007. *Kirinyuh (Chromolaena odorata (L) R.M. King dan H. Robinson) gulma Padang Rumput Yang Merugikan*. Wartazoa, 17(1), pp. 46-52.

Puzi, W. S., Lukmayani, Y. & Dasuki, U. A., 2015. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Sirih Merah*. Prosding Penelitian SPeSIA Unisba, pp. 53-58.

Radji, M., 2015. *Mekanisme Aksi Molekuler Antibiotik dan Kemoterapi*. Jakarta: EGC.

- Rahbari, R. et al., 2009. *A Novel L1 Retrotransposon Marker for Hela Cell Line Identification*. Europe PMC Funders Group, October, 46(4), pp. 277-284.
- Rao, K. S., Chaudhury, P. K. & Pradhan, A., 2010. *Evaluation of Anti-oxidant Activities and Total Phenolic of Chromolaena Odorata*. Food and Chemical Toxicology, pp. 729-732.
- Robinson, T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB Press.
- Shihab, M. Q., 2002. *Tafsir Al Mishbah : Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Siegel, R., Miller, K. D. & Jemal, A., 2016. Cancer Statistic, 2016. *CA Cancer Journal Clinic*, January/February, 66(1), pp. 7-30.
- Siswanto, 2015. *Metodologi Penelitian Kesehatan dan Kedokteran*. Yogyakarta: Bursa Ilmu.
- Society, A. C., 2015. *Global Cancer Facts and Figure*. Third Edition ed. Atlanta: American Cancer Society.
- Sudarmo, S., 2014. *Mudah Membuat Peptisida Nabati*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Suksamrarn, A. et al., 2004. *Antimycobacterial Activity and Cytotoxicity of Flavonoids From The Flovers Of Chromolaena odorata*. Archives of Pharmacol Research, 27(5), pp. 507-511.
- Syaifuddin, 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Sleman: DeePublish.
- Tiwari, Prashant & Kuma, B., 2011. *Phytochemical Screenig and Extraction : A Review*. *International Pharmaceutical Science*. -: -.
- Tjitrosoepomo, G., 2010. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University.
- Wahyuningsih, M. S. H., Syarif, R. A. & Suharmi, S., 2013. *Selektivitas Ekstrak Terpurifikasi Daun Tithonia Diversifolia Terhadap Sel Hela*. Traditional Medicine Journal, January, Volume 18, pp. 22-28.
- Wirjowidagdo, S., 2007. *Kimia Dan Farmakologi Bahan Alam*. 2 ed. Jakarta: EGC.

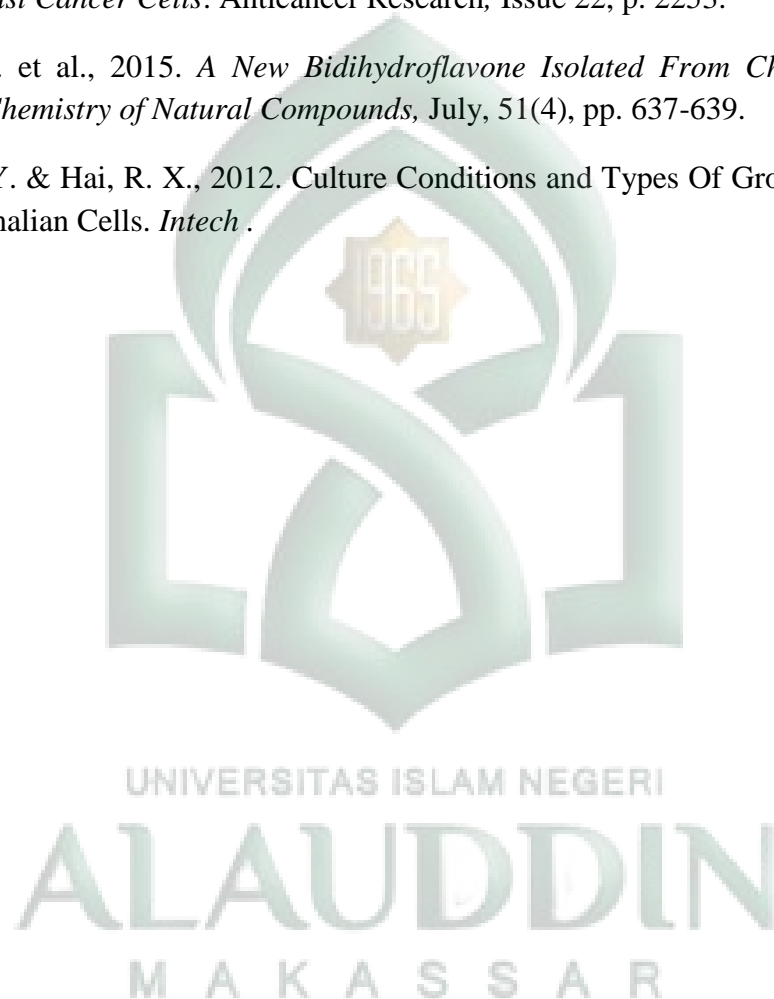
World Health Organization, 2012. *International Agency for Research on Cancer*. [Online]

Available at: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx [Accessed 14 04 2017].

Zampieri, Bianchi, Ruff & Arbuthnot, 2002. *Differential Modulation by Estradiol of P-glycoprotein Drug Resistance Protein Expression in Cultured MCF7 and T47D Breast Cancer Cells*. *Anticancer Research*, Issue 22, p. 2253.


Zhang, M. et al., 2015. *A New Bidihydroflavone Isolated From Chromolaena odorata*. *Chemistry of Natural Compounds*, July, 51(4), pp. 637-639.

Zhanqiu, Y. & Hai, R. X., 2012. *Culture Conditions and Types Of Growth Media For Mammalian Cells*. *Intech*.




LAMPIRAN

Lampiran 1. Kode Etik



MEDICAL AND HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE (MHREC)
FACULTY OF MEDICINE GADJAH MADA UNIVERSITY
- DR. SARDJITO GENERAL HOSPITAL



ETHICS COMMITTEE

Ref: KE/FK/0026 /EC/2017

Title of the Research Protocol : Skrining Fitokimia Fraksi-Fraksi dari Ekstrak Metanol Daun Botto- Botto (*Chromolaena Odorata*) Yang Paling Selektif dalam Menghambat Pertumbuhan Sel Kanker Hela dan Sel Kanker MCF7 Dibandingkan Sel Normal Vero

Documents Approved : Study Protocol versi 01 2017

Principle Investigator : Faradhiba Amriani

Name of supervisor : 1. Nursalam Hamzah, S.Si., M.Si., Apt
 2. Afrisusnawati Rauf, S.Si., M.Si., Apt


Institution(s)/place(s) of research : Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Makassar dan Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) states that the document (s) above do not need approval letter of The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC).

Yogyakarta, **31 MAY 2017**



Prof. Dr. dr. Sri Sutarni, Sp.S(K)
Chairperson

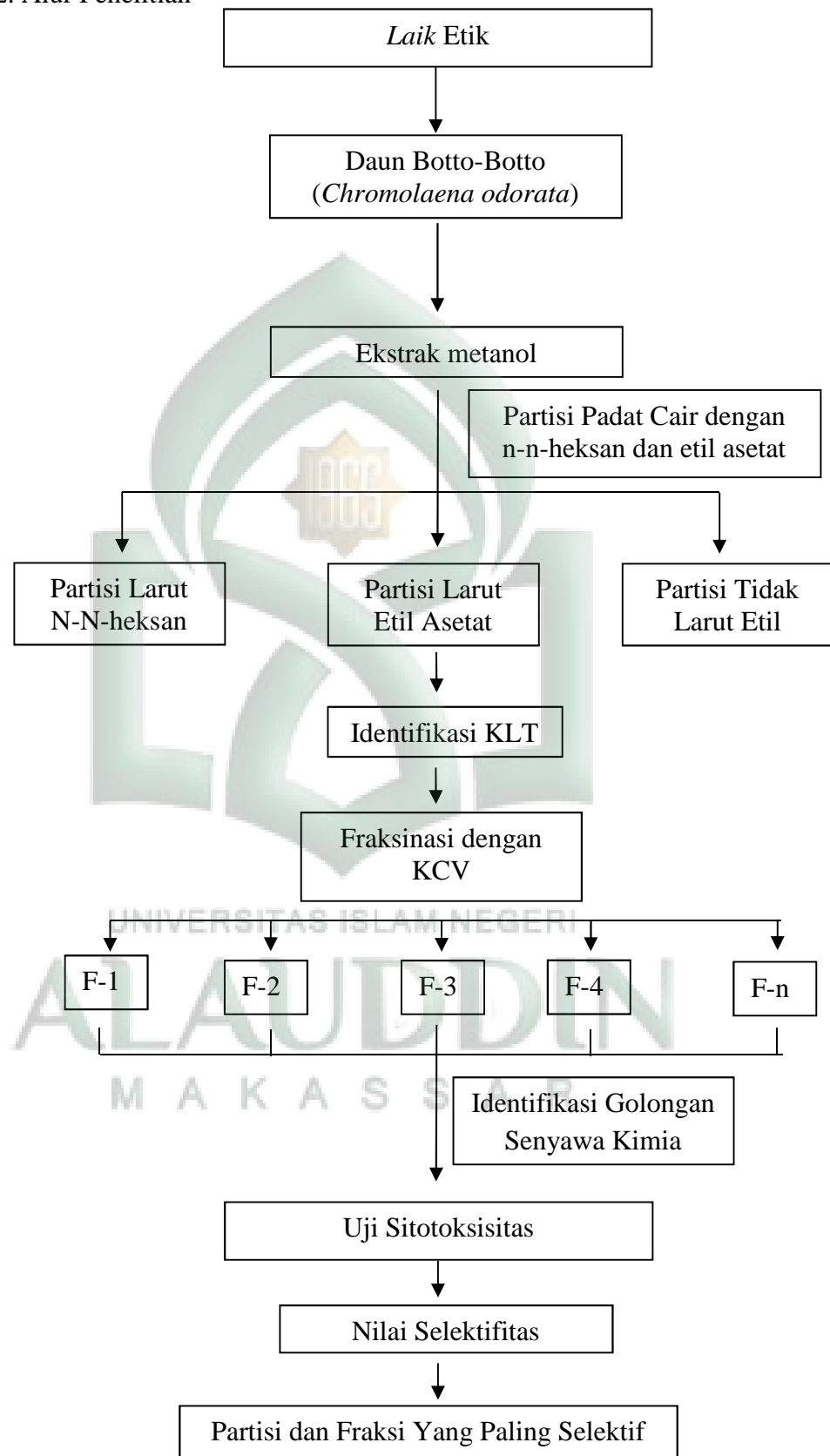


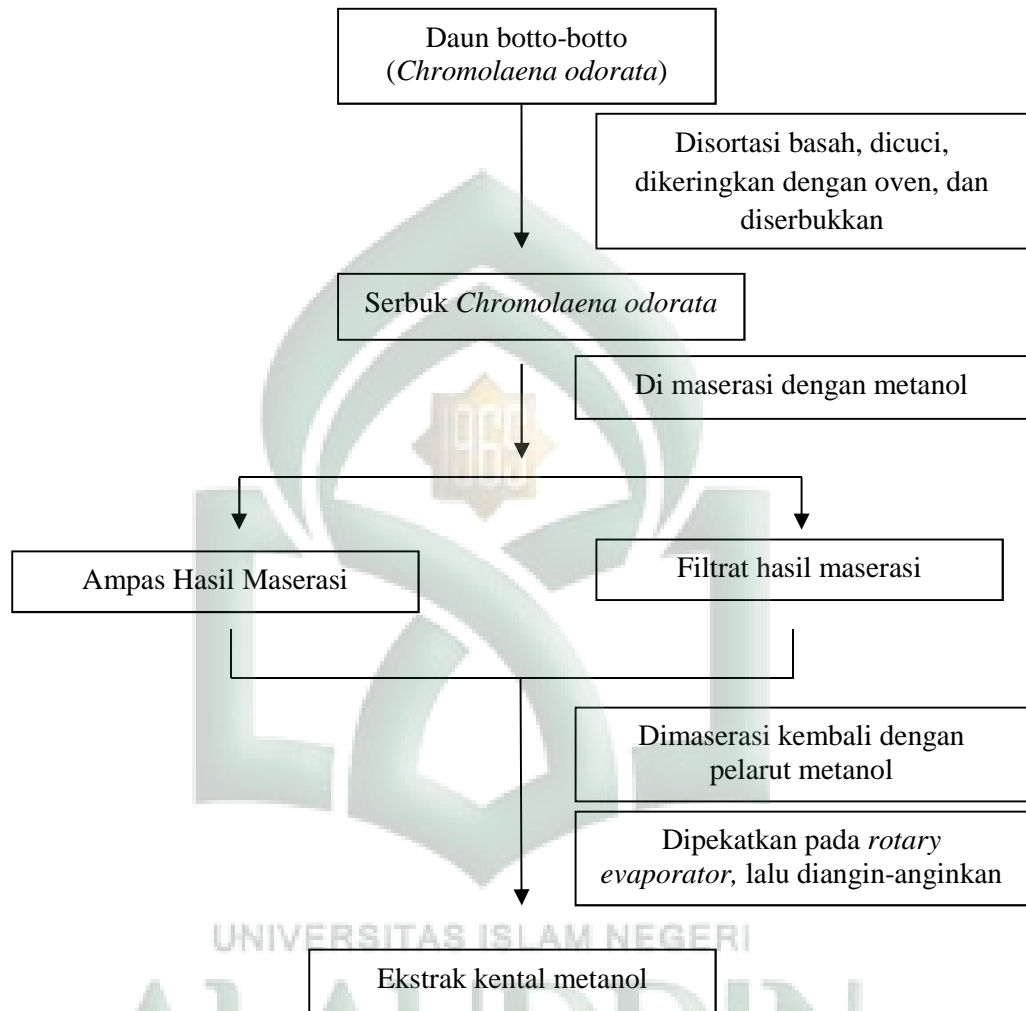
dr. Ahmad Hamim Sadewa, Ph.D
Secretary

ALAUDDIN

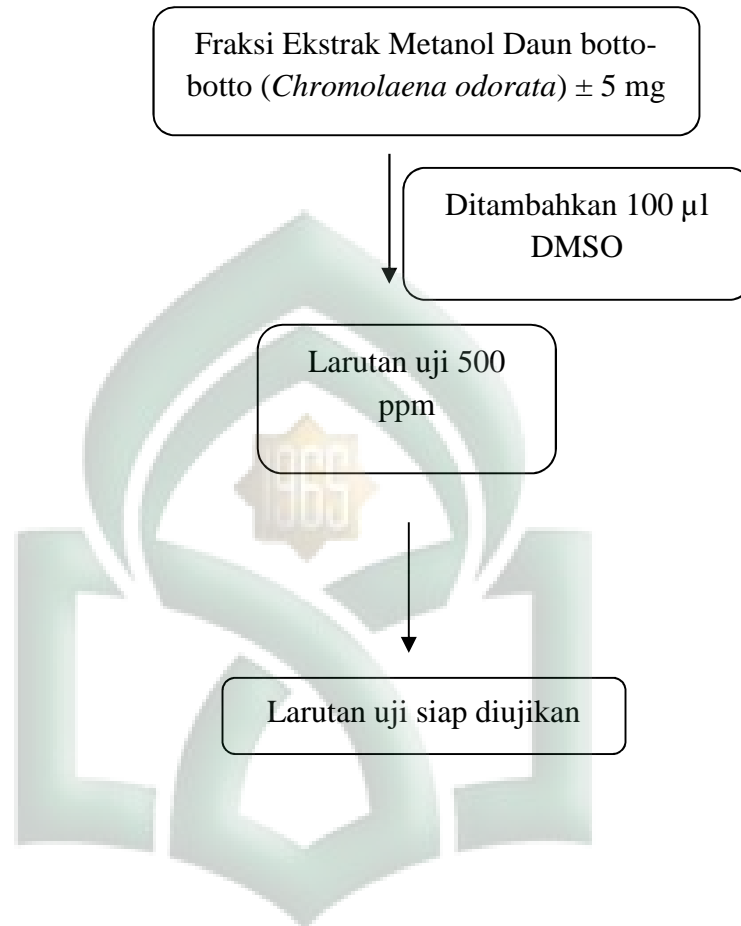
M A K A S S A R

Lampiran 2. Alur Penelitian

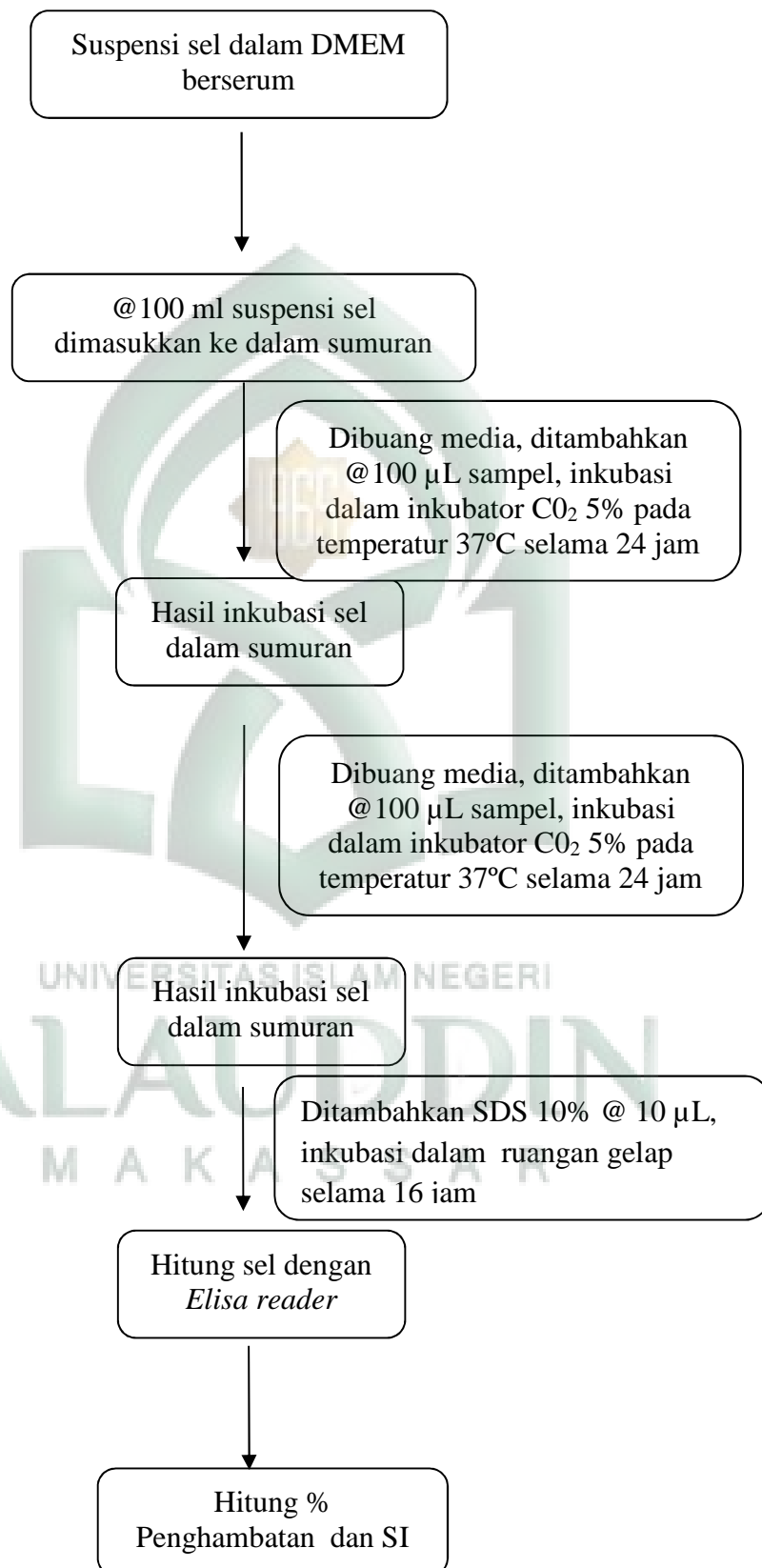


Lampiran 3. Proses Ekstraksi Sampel *Chromolaena odorata*

Lampiran 4. Pembuatan Larutan Uji Sitotoksitas (Pengenceran)



Lampiran 5. Uji MTT



Lampiran 6. Perhitungan Sel Hidup

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{(KS - \text{Blank}) - (KS \text{ Treatment} - \text{Blank})}{KS - \text{Blank}} \times 100\%$$

Contoh Perhitungan :

Diketahui, Kontrol Sel = 0.648

Blank = 0.098

Kontrol Sel Treatment = 0.12

Ditanyakan, % sel hidup ?

Maka,

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{(KS - \text{Blank}) - (KS \text{ Treatment} - \text{Blank})}{KS - \text{Blank}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{(0.648 - 0.098) - (0.120 - 0.098)}{0.648 - 0.098} \times 100\%$$

$$= \frac{0.549 - 0.022}{0.5495} \times 100\%$$

$$= 95,9 \%$$

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
 MAKASSAR

Lampiran 7. Perhitungan Sel Mati

$$\% \text{ Sel Mati} = \frac{\text{Total} - \text{KS Treatment} - \text{Blank}}{\text{KS} - \text{Blank}}$$

Contoh Perhitungan :

Diketahui, Kontrol Sel = 0.648

Blank = 0.098

Kontrol Sel Treatment = 0.12

Ditanyakan, % sel hidup ?

Maka,

$$\% \text{ Sel Mati} = \frac{\text{KS Treatment} - \text{Blank}}{\text{KS} - \text{Blank}}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Sel Mati} &= \frac{0.120 - 0.098}{0.648 - 0.098} \\ &= 0.021 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan Pengenceran

Untuk pengenceran sampel

$$5 \text{ mg}/100 \text{ } \mu\text{l DMSO} = 500 \text{ ppm}$$

$$5 \text{ mg}/100 \text{ } \mu\text{l} = 5000 \text{ } \mu\text{g}/0,1 \text{ ml}$$

$$= 50.000 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$$

$$N1. V1 = N2. V2$$

$$50.000 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml} . V1 = 500 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}. 1.1 \text{ ml}$$

$$= \frac{550 \text{ } \mu\text{g}}{50.000 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}}$$

$$= 0.011 \text{ ml}$$

$$= 11 \text{ } \mu\text{l}$$

Untuk pembuatan 500 ppm sampel uji

Dimasukkan 1100 μl Media Kultur, kemudian ditambahkan dengan 11 μl sampel lalu dihomogenkan dan dikeluarkan kembali sebanyak 11 μl . . Untuk setiap sumuran dipipet sebanyak 100 μl .

Lampiran 9. Data Nilai Absorbansi Sel Kanker HeLa

Fraksi	Absorbansi			Rata-rata
Ekstrak	0.236	0.265	0.326	0.276 ± 0.045
Partisi Larut N-heksan	0.238	0.227	0.225	0.23 ± 0.007
Partisi Larut Etil Asetat	0.399	0.492	0.474	0.455 ± 0.049
Partisi Tidak Larut Etil Asetat	0.658	0.651	0.644	0.651 ± 0.007
Fraksi 1	0.296	0.376	0.350	0.341 ± 0.040
Fraksi 2	0.208	0.267	0.265	0.247 ± 0.033
Fraksi 3	0.449	0.427	0.581	0.486 ± 0.083
Fraksi 4	0.288	0.325	0.285	0.299 ± 0.0223
Fraksi 5	0.289	0.329	0.344	0.321 ± 0.028
Fraksi 6	0.216	0.225	0.244	0.228 ± 0.014
Fraksi 7	0.487	0.475	0.491	0.484 ± 0.008
Kontrol Positif (Cisplatin)	0.361	0.390	0.406	0.385 ± 0.022

Lampiran 10. Data Nilai Absorbansi Sel Kanker MCF-7

Fraksi	Absorbansi			Rata-Rata
Ekstrak	0.326	0.354	0.352	0.344±0.015
Partisi Larut N-heksan	0.356	0.321	0.311	0.329±0.023
Partisi Larut Etil Asetat	0.524	0.510	0.462	0.497±0.032
Partisi Tidak Larut Etil Asetat	0.816	0.863	0.763	0.814±0.050
Fraksi 1	0.469	0.416	0.448	0.444±0.026
Fraksi 2	0.249	0.255	0.280	0.261±0.016
Fraksi 3	0.474	0.559	0.640	0.557±0.083
Fraksi 4	0.323	0.376	0.304	0.334±0.037
Fraksi 5	0.28	0.336	0.331	0.315±0.030
Fraksi 6	0.251	0.235	0.233	0.239±0.009
Fraksi 7	0.316	0.322	0.331	0.323±0.007
Kontrol Positif (Doxorubisin)	0.406	0.444	0.401	0.417±0.023

Lampiran 11. Data Nilai Absorbansi Sel Normal Vero

Fraksi	Absorbansi			Rata-rata
Ekstrak	0.260	0.233	0.246	0.246±0.013
Partisi Larut N-heksan	0.219	0.226	0.217	0.221±0.004
Partisi Larut Etil Asetat	0.369	0.355	0.441	0.388±0.046
Partisi Tidak Larut Etil Asetat	1.123	1.005	1.143	1.090±0.074
Fraksi 1	0.456	0.679	0.670	0.602±0.126
Fraksi 2	0.181	0.195	0.203	0.193±0.011
Fraksi 3	0.469	0.452	0.504	0.475±0.026
Fraksi 4	0.367	0.310	0.343	0.34±0.028
Fraksi 5	0.314	0.296	0.444	0.351±0.080
Fraksi 6	0.278	0.287	0.231	0.265±0.030
Fraksi 7	0.638	0.660	0.680	0.659±0.021
Kontrol Positif (Doxorubisin)	0.564	0.573	0.554	0.563±0.009

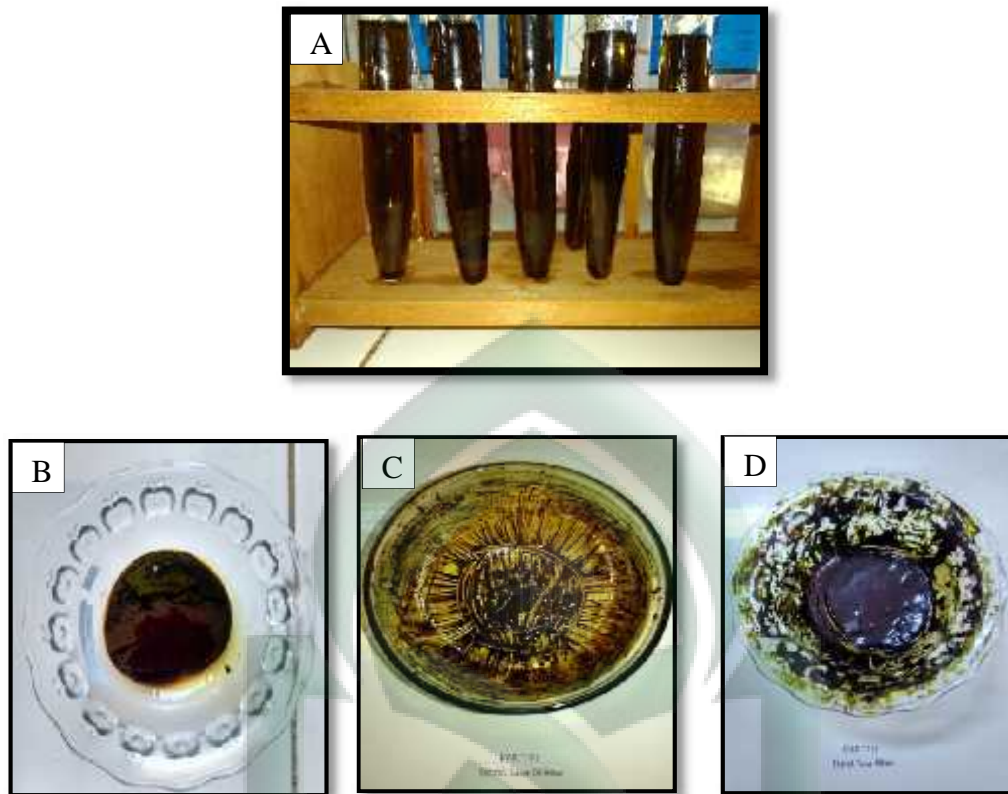
Lampiran 12. Gambar Tanaman Botto-Botto (*Chromolaena odorata*)



Lampiran 13. Gambar Penelitian



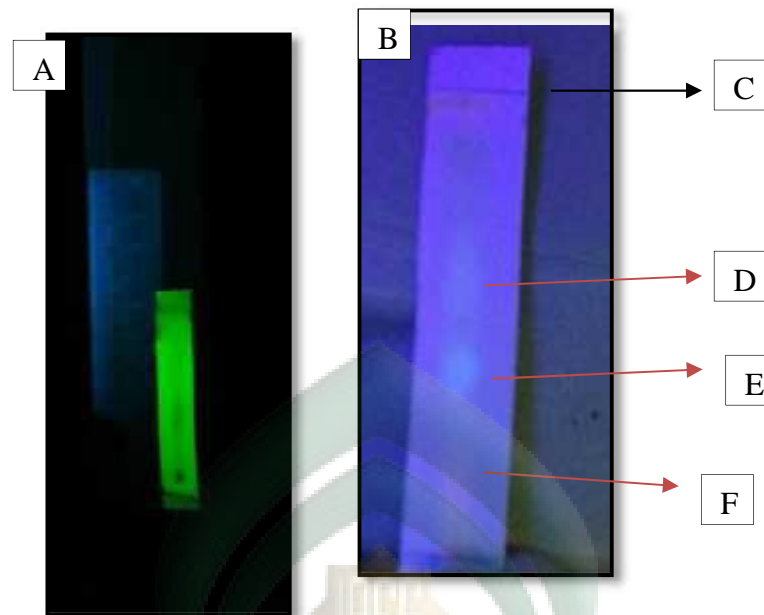
Gambar 7. Ekstrak Daun Botto-botto



Gambar 8. Hasil Partisi

Keterangan :

- A. Proses partisi ekstrak metanol daun botto-botto
- B. Hasil partisi tidak larut etil
- C. Hasil partisi larut etil
- D. Hasil partisi larut n-heksan



Gambar 9. Profil KLT

Keterangan :

A : Profil KLT dilihat pada UV 254

B : Profil KLT dilihat pada UV 366

C : Jarak Tempuh Eluen

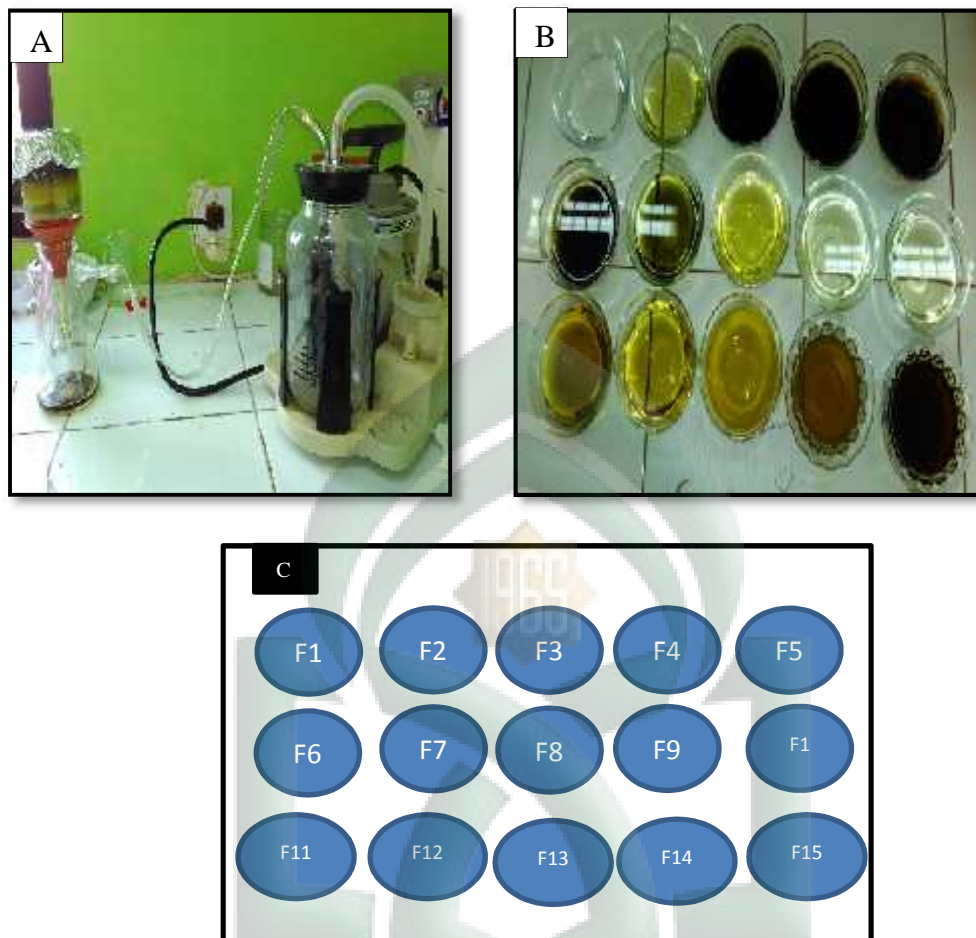
D : Noda 1

E : Noda 2

F : Noda 3

Fase Gerak : n-heksan : Etil asetat (1:2)

Fase Diam : Silika gel GF₂₅₄



Gambar 10. Fraksinasi

Keterangan : UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

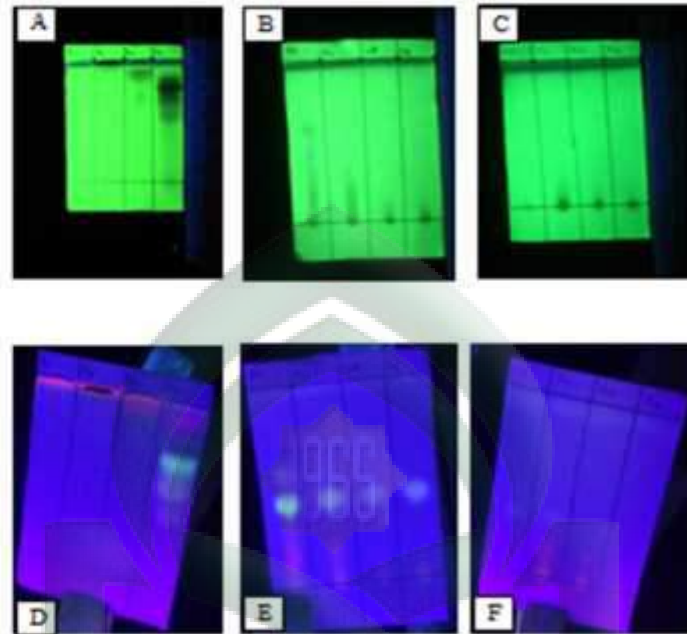
A : Proses Fraksinasi

B : Hasil Fraksinasi

C : Pola Susunan Fraksi

Eluen : n-heksan : Etil asetat (1:2) 110 ml

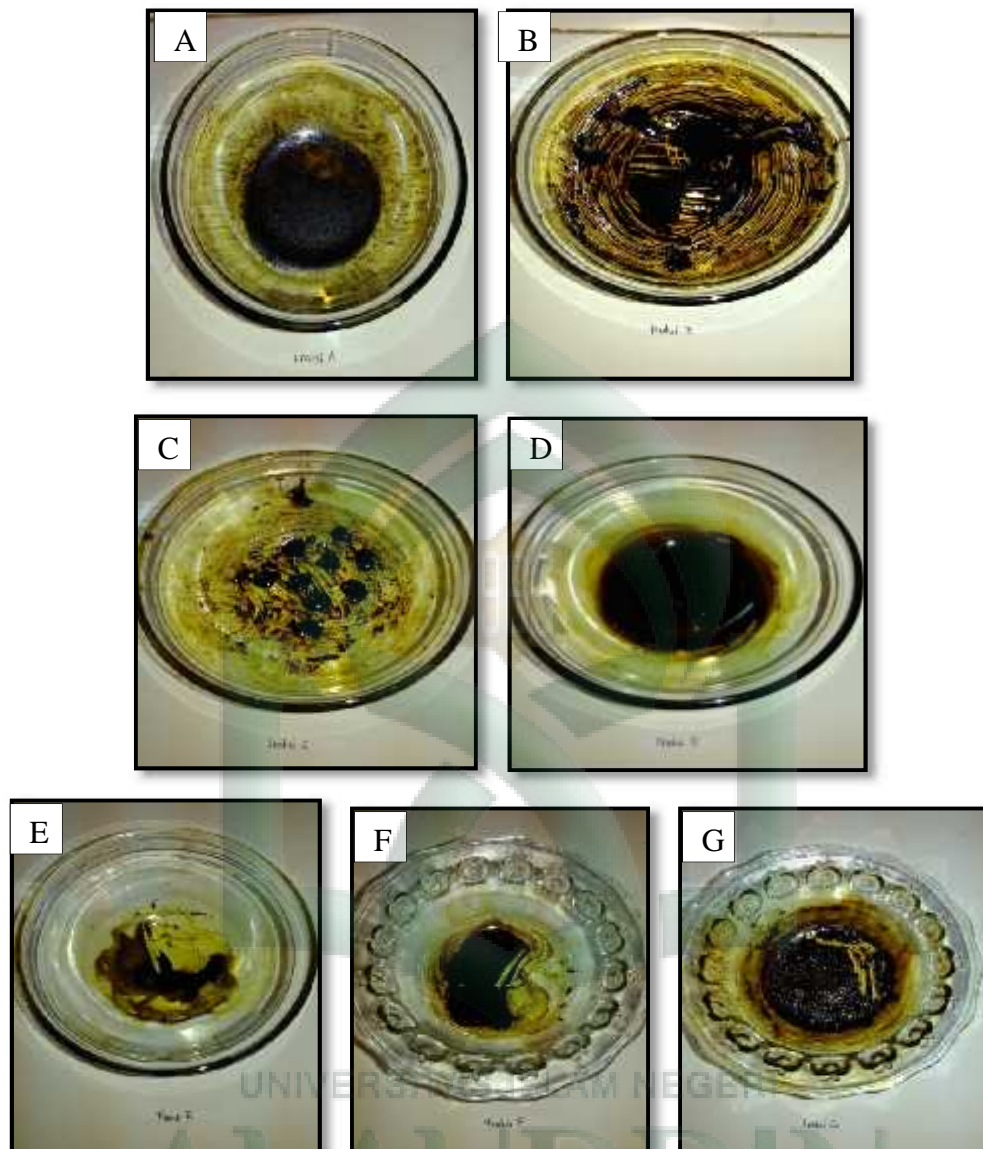
Jumlah fraksi : 15



Gambar 11. Profil KLT Fraksi

Keterangan :

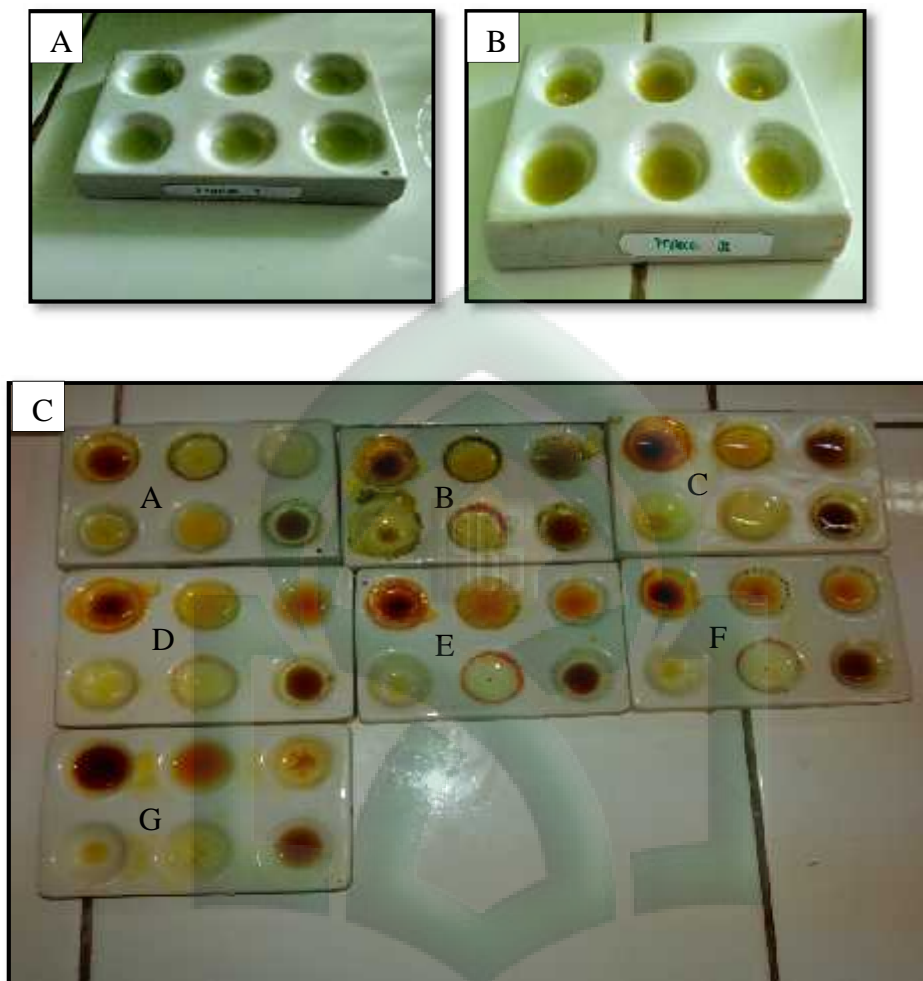
- A. Profil KLT fraksi 2-5 dilihat pada UV 254
- B. Profil KLT fraksi 6-9 dilihat pada UV 254
- C. Profil KLT fraksi 10-13 dilihat pada UV 254
- D. Profil KLT fraksi 2-5 dilihat pada UV 366
- E. Profil KLT fraksi 6-9 dilihat pada UV 366
- F. Profil KLT fraksi 10-13 dilihat pada UV 366



Gambar 12. Hasil Penggabungan Fraksi

Keterangan :

- A. Fraksi A : Fraksi 2-3
- B. Fraksi B : Fraksi 4
- C. Fraksi C : Fraksi 5
- D. Fraksi D : Fraksi 6
- E. Fraksi E : Fraksi 7-10
- F. Fraksi F : Fraksi 11-14
- G. Fraksi G : Fraksi 15-20



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

Gambar 13. Hasil Identifikasi Senyawa

Keterangan :

A : Fraksi A sebelum penambahan reagen

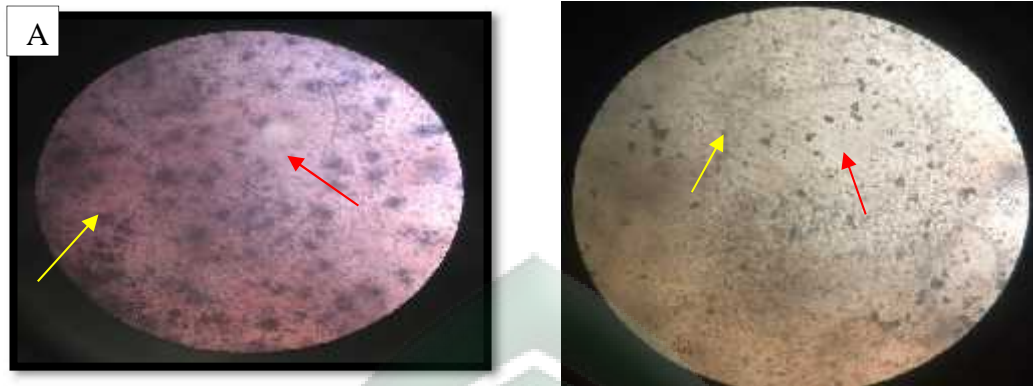
B : Fraksi B sebelum penambahan reagen

C : Fraksi ABCDEF setelah penambahan reagen

Reagen : *Dragendroff*, AlCl_3 , wagner, mayer, FeCl_3 , *Liebermann-buchard*

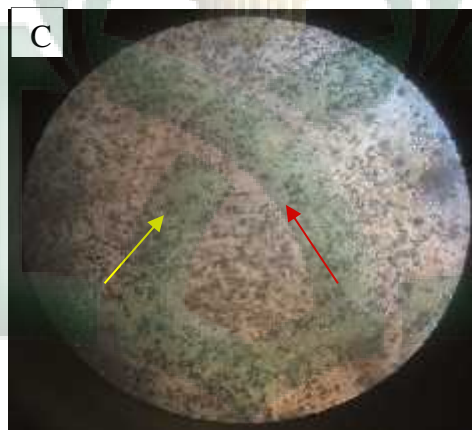


Lampiran 15. Gambar Sel



a) Sel MCF7

b) Sel HeLa



Keterangan :

A : Sel MCF7

B : Sel HeLa

C : Sel Vero

 : Sel Mati

 : Sel Hidup

Lampiran 16. Data Nilai Rf

Fraksi	Nilai Rf
Fraksi 2	1
Fraksi 3	0.98
Fraksi 4	0.90
Fraksi 5	0.87
Fraksi 6	0.58
Fraksi 7	0.29
Fraksi 8	0.29
Fraksi 9	0.29
Fraksi 10	0.29
Fraksi 11	0.2
Fraksi 12	0.2
Fraksi 13	0.2
Fraksi 14	0.2
Fraksi 15	0.09

Contoh perhitungan nilai Rf:

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak Tempuh ANoda}}{\text{Jarak Tempuh EEluen}}$$

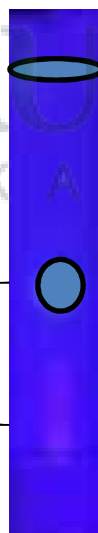
$$\text{Fraksi 7} = \frac{\text{Jarak Tempuh Noda}}{\text{Jarak Tempuh Eluen}}$$

$$= \frac{1.6 \text{ cm}}{5.5 \text{ cm}}$$

$$= 0.58 \text{ cm}$$

Jarak Tempuh Eluen

Jarak Tempuh Noda



BIOGRAFI PENULIS



Faradhiba Amriani, lahir di ujungpandang, 20 September 1995. Merupakan Anak Pertama dari empat bersaudara dari pasangan suami isteri Amiruddin SmHk dan Hj. Suarni S.Pd. Memulai sekolah di SD Inpres Pabangiang, Sungguminasa, Gowa. Setelah lulus SD kemudian melanjutkan Pendidikan di SMP Negeri 1 Sungguminasa dan SMA Negeri 1 Sungguminasa. Selepas dari Sekolah Menengah Atas (SMA), ia menempuh Pendidikan di UIN Alauddin Makassar jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. **“Allah Maha Baik dengan semua rencana-Nya”** itulah kalimat yang ia pegang hingga sekarang. Dan harapannya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk para pembacanya.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R